

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER EINFLÜSSE
EINER OXYCHOLESTERINHALTIGEN DIÄT AUF BESTIMMTE
PARAMETER DES KOHLENHYDRAT- UND FETTSTOFFWECHSELS
BEIM MINIATURSCHWEIN**

MARKUS MAHAL

Disbui. München

1989



Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. D. Giesecke

UNTERSUCHUNGEN ÜBER EINFLÜSSE EINER OXYCHOLESTERINHALTIGEN
DIÄT AUF BESTIMMTE PARAMETER DES KOHLENHYDRAT-
UND FETTSTOFFWECHSELS BEIM MINIATURSCHWEIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

MARKUS MAHAL

aus

Kümmersbruck

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. D. Giesecke

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Berner

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	1
1.1.	Definition und Ätiologie der Atherosklerose	1
1.2.	Entstehung und Vorkommen von Oxycholesterinen	3
1.3.	Biologische Wirkungen der Oxycholesterine	6
1.3.1.	Cytotoxische Wirkung	6
1.3.2.	Wirkung auf die Cholesterinbiosynthese	6
1.3.3.	Wirkung auf die DNS - Synthese	7
1.3.4.	Wirkung auf Membranomorphologie und -funktion	7
1.3.5.	Atherogene Wirkung	9
1.4.	Das Schwein als Atherosklerosemodell im Vergleich mit anderen Tierarten	10
1.4.1.	Physiologische Unterschiede	10
1.4.2.	Pathologische und anatomische Unterschiede	10
1.4.3.	Biochemische Unterschiede	11
1.4.4.	Unterschiede aus versuchstechnischer Hinsicht	12
1.5.	Problemstellung	12
2.	Material und Methoden	15
2.1.	Tiermaterial	15
2.2.	Versuchsanlage	15
2.3.	Versuchstierhaltung und Fütterung	16
2.4.	Probengewinnung	20
2.5.	Analytische Methoden	21
2.5.1.	Glucose	21
2.5.2.	Insulin	21
2.5.3.	Freie Fettsäuren	22
2.5.4.	LDL-Cholesterin und HDL-Cholesterin	23
2.5.4.1.	LDL-Cholesterin	23
2.5.4.2.	HDL-Cholesterin	24
2.5.5.	Osmotische Resistenz der Erythrozyten	25
2.6.	Statistische Methoden	25

3.	Ergebnisse	27
3.1.	Konzentrationsverlauf der Plasmaparameter Glucose, Insulin und Freie Fettsäuren	27
3.1.1.	Konzentrationsverlauf der Glucose	27
3.1.2.	Konzentrationsverlauf des Insulins	32
3.1.3.	Konzentrationsverlauf der FFS	36
3.2.	Beziehungen zwischen den Metabolitkonzentra- tionen von Glucose, Insulin und FFS	40
3.3.	Vergleich der HDL-Cholesterinkonzentrationen	40
3.4.	Vergleich der LDL-Cholesterinkonzentrationen	43
3.5.	Vergleich der HDL- mit der LDL-Cholesterin- konzentration	46
3.6.	Erythrozytenfragilität - Vergleich behandelter und unbehandelter Tiere	47
4.	Diskussion	52
4.1.	Beurteilung der Wirkungen von Oxycholesterinen in vivo	52
4.2.	Interpretation der Wirkung des Insulins auf den Fettstoffwechsel	53
4.3.	Die HDL-Fraktion als Hauptträger des Cholesterins	54
5.	Zusammenfassung	55
	Summary	57
6.	Literaturverzeichnis	59

1. EINLEITUNG

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

In dem letzten Jahre wurde eine große Anzahl von Arbeiten über die Bedeutung der Lipide im menschlichen Organismus veröffentlicht. Diese Arbeiten haben gezeigt, dass die Lipide nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als wichtige Bausteine für die Zellmembranen und als Hormone dienen. Die Lipide sind also in vieler Hinsicht an der Regulation des Stoffwechsels beteiligt.

Die Lipide sind in der Natur in verschiedenen Formen vorzufinden. Sie können als freie Fettsäuren, als Glyceride oder als Phospholipide vorliegen. Die Phospholipide sind die wichtigsten Bausteine der Zellmembranen. Sie sind in der Lage, die Membranen zu stabilisieren und die Durchlässigkeit für Wasser und Ionen zu regulieren.

Die Lipide sind auch als Energiespeicher bekannt. Sie sind in der Lage, Energie in Form von Triglyceriden zu speichern. Diese Energie kann bei Bedarf freigesetzt werden, um den Organismus zu versorgen.

Die Lipide sind auch als Hormone bekannt. Sie sind in der Lage, die Funktion anderer Hormone zu regulieren. Sie sind also an der Regulation des Stoffwechsels beteiligt.

Die Lipide sind also in vieler Hinsicht an der Regulation des Stoffwechsels beteiligt. Sie sind nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als wichtige Bausteine für die Zellmembranen und als Hormone dienen.

CH	Cholesterin
FFS	Freie Fettsäuren
h	Stunde
HDL	High-Density-Lipoproteins
LDL	Low-Density-Lipoproteins
KGW	Körpergewicht
DNS	Desoxyribonucleinsäure
s	Standardabweichung
VK	Variationskoeffizient
25-OH-CH	25-Hydroxy-Cholesterin
5,6-Epoxy-CH	5,6-Epoxy-Cholesterin

1. EINLEITUNG

In den letzten Jahren wurde das Cholesterin (CH) als einer der wichtigsten pathogenetischen Faktoren für die Entstehung der Atherosklerose angesehen. Seit den Versuchen von IMAI (1976) gewinnen die oxidierten Derivate des CH zunehmend an wissenschaftlichem Interesse.

In der vorliegenden Arbeit wurden in einem Langzeitversuch mögliche Einflüsse von Oxycholesterinen auf bestimmte biochemische Parameter untersucht. Für die Versuche wurde mit der Spezies Schwein eine dem Menschen im Ernährungstyp ähnliche Tierart ausgewählt.

1.1. Definition und Ätiologie der Atherosklerose

Mit 31,3% gehören Krankheiten des Herzens und des Kreislaufes zu den häufigsten Todesursachen der deutschen Bundesbürger im mittleren Lebensalter zwischen 35 - 65 Jahren (STAT. JAHRBUCH, 1980). Zugrunde liegen häufig atherosklerotische Angiopathien.

Nach der Definition der WHO ist die Atherosklerose eine variable Kombination von Veränderungen der Arterienintima, die mit einer herdförmigen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, mit der Bildung eines fibrösen Gewebes und mit Kalkablagerungen einhergeht sowie mit Veränderungen der Media verbunden sein kann (WHO, 1958). Die Atherosklerose kann als spezielle Form der Arteriosklerose verstanden werden, wobei pathogenetisch relevante Lipideinlagerungen in der Arterienintima das Sine qua non des atherosklerotischen Prozesses darstellen (ROBERTS und STRAUS, 1965).

Das Verständnis über Ätiologie und Pathogenese der Atherosklerose hat sich im Laufe der Forschung geändert, ist aber auch heute noch unvollkommen. KAPLAN (1961) bezeichnet kardiovaskuläre Erkrankungen als spontane Krankheitsprozesse. Für LUGINBÜHL et al. (1965) dagegen ist die Atherosklerose das Produkt von Reaktionen der glatten Gefäßmuskelzellen auf unvollständig verstandene Stimuli, anfangs nur als mikroskopisch kleine herdförmige Läsionen sichtbar, bis zu für das bloße Auge erkennbaren Verdickungen.

Klinisch manifestieren sich diese pathologischen Zeichen nach jahrzehntelanger asymptomatischer Entwicklung der atherosklerotischen Gefäßverengung in Folgeerscheinungen wie koronare Herzkrankheit (Angina pectoris, Herzinfarkt, akuter Herztod), zerebrovaskuläre Insuffizienz (Schlaganfall) und periphere arterielle Ver-

schlußkrankheit (Claudicatio intermittens, Gangrän) (ASSMANN, 1982).

Als Voraussetzung für die Entstehung der Arteriosklerose wird heute allgemein eine Verletzung des Endothels angenommen. Nach einem Modell, das auf ROSS und GLOMSET (1976) zurückgeht, wird das beschädigte Endothel durchlässig. So können an den defekten Stellen Thrombozyten anhaften und agglutinieren (DEMBINSKA - KIEC et al., 1978). Im Blut zirkulierende Lipide können daraufhin leichter in die Gefäßwand eindringen und sich dort ablagern (KRUTH, 1985). Aus den Thrombozyten freigesetzte Faktoren regen die glatten Muskelzellen aus der Schicht unter dem Endothel an, sich zu vermehren und in den beschädigten Bereich einzuwandern. Gleichzeitig dringen dort Monozyten ein, die wie die Zellen der glatten Muskulatur Lipide phagozytieren und abbauen. Sie werden dann Schaumzellen genannt (ROSS, 1986).

Für die Bildung der Läsionen werden verschiedene Faktoren, wie hoher Blutdruck, Streß, Rauchen (ASSMANN, 1982), Infektionen mit Herpesviren (GYORKEY et al., 1984) und immunologische Reaktionen (BAUMGARTNER, 1977) verantwortlich gemacht. Auch bestimmte Substanzen in der Nahrung, wie z.B. übermäßiger Gehalt an Vitamin D (KUMMEROW, 1980) sowie Fettsäureperoxide im Serum (YAGI, 1984) werden diskutiert.

Aufgrund neuerer Untersuchungen scheinen jedoch die Oxidationsprodukte des Cholesterins die wichtigste, also die primäre Ursache der arteriosklerotischen Läsionen darzustellen. (SIEBER, 1986).

1.2. Entstehung und Vorkommen der Oxycholesterine

Bis heute sind mehr als 80 Autoxidationsprodukte des CH bekannt (SMITH, 1980 u. 1981).

Diese Oxycholesterine entstehen aus dem CH, einem ungesättigten, wasser-unlöslichen Alkohol. Sie sind einer Oxidation leicht zugänglich.

Erste Berichte über die Instabilität des CH gegenüber Licht und Luft während der Lagerung gehen auf die Jahrhundertwende zurück (SCHULZE und WINTERSTEIN, 1904). Später wurde über das Entstehen von Oxidationsprodukten durch die Einwirkung von Licht und Bestrahlung (DAUBEN und PAYOT, 1956) sowie von Hitze (VAN LIER und SMITH, 1970) berichtet.

Die Mechanismen der Autoxidation des CH wurden intensiv untersucht (SMITH, 1980). CH oxidiert in Gegenwart von freien Sauerstoffradikalen relativ leicht. Die Bildung der verschiedenen Oxidationsprodukte scheint vom physikalischen Zustand des CH abhängig zu sein und vollzieht sich über zwei Prozesse (siehe Abb.1).

Während beim CH in dispergiertem Zustand oder in einer wässrigen kolloidalen Lösung der A,B - Ring, und dort besonders die Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 5 und 6 oxidationsempfindlich reagiert, sind beim CH in kristallinem Zustand und in Anwesenheit von Luft vor allem die 3β - Alkoholgruppe und die Seitenkette einer Oxidation ausgesetzt. Durch Oxidation am A,B - Ring entstehen das 5,6 - Epoxycholesterin (5,6 - Epoxy - CH) und daraus das $3\beta,5\alpha,6\beta$ - Cholestantriol, durch Oxidation der Seitenkette das 25 - Hydroxycholesterin (25 - OH - CH). Im eigenen Versuch wurden diese drei Oxidationsprodukte des CH verwendet.



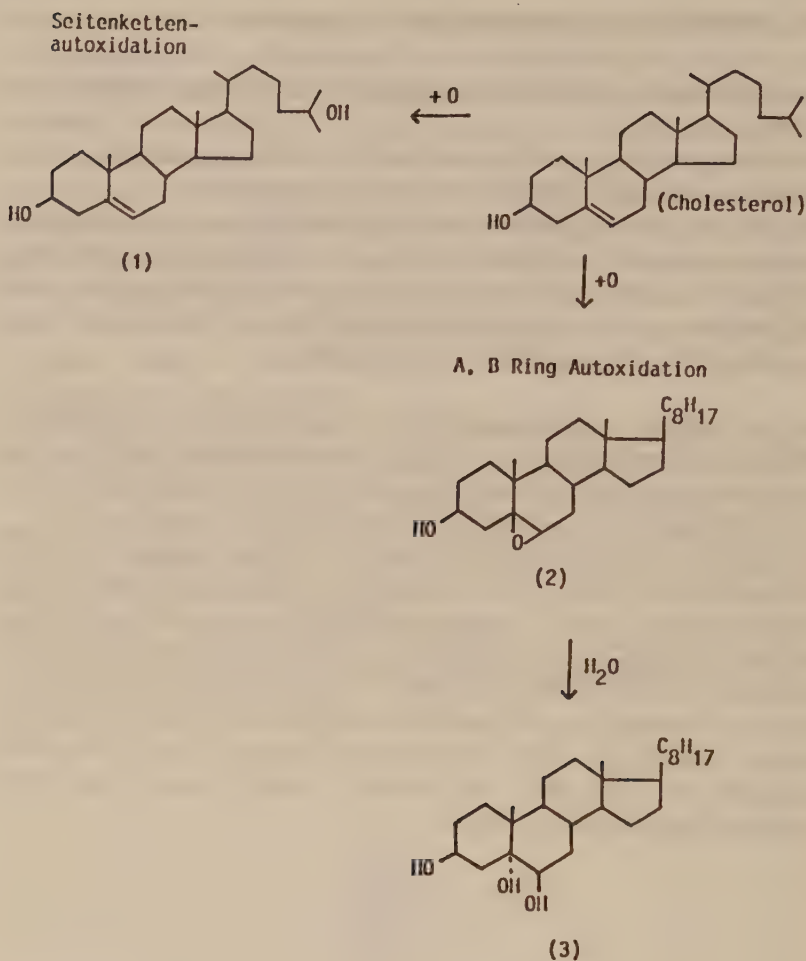


Abb. 1: Bildung der im Versuch eingesetzten Oxysterine aus dem Cholesterin (nach PENG und TAYLOR, 1984)

(1) 25 - Hydroxycholesterin

(2) 5,6 - Epoxcholesterin

(3) 3 β ,5 α ,6 β - Cholestantriol

Die Möglichkeit, Oxycholesterine in Lebensmitteln anzutreffen, ist auf tierische Erzeugnisse beschränkt. Nur diese enthalten CH in nennenswerten Mengen, während in pflanzlichen Fetten nur Spuren vorhanden sind. Unter den tierischen Produkten fallen besonders Innereien, Butter, Hühnerei, Eigelb, Trockenvollei und Trockeneigelb mit hohen CH-Gehalten auf (SIEBER, 1986). So wurde 1939 erstmals von HASLEWOOD über das Vorkommen von Oxidationsprodukten des CH in biologischem Material berichtet. Er isolierte aus Rinderleber 7β -HydroxyCH und 1941 auch $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol. Auch bei tierischen Produkten, wie Schweinefett (WILLIAMS und PEARSON, 1965), Rindfleisch (VAJDI und NAWAR, 1979) und Rindertalg bestätigten sich die Vermutungen, daß Oxycholesterine enthalten sind.

In getrocknetem Eigelb, das als Rohmaterial für eine große Zahl verschiedener Ferticlebensmittel dient, wurde erstmals von FIESER et al. (1953) $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol nachgewiesen. Inzwischen wurden in Eiern und Eiprodukten noch verschiedene andere Oxycholesterine isoliert (PENG und TAYLOR, 1983; FISCHER et al., 1985; NABER und BIGGERT, 1982).

In Milch konnten bisher keine Oxycholesterine gefunden werden, was nicht überraschend ist, da Milch aufgrund ihrer Zusammensetzung keine günstigen Voraussetzungen für die Bildung dieser Produkte aufweist. Auch pasteurisierte und ultra-hocherhitzte Milch enthält keine nachweisbaren Mengen an Oxycholesterinen (BICAN, 1984).

Anders liegen die Verhältnisse bei verschiedenen aus Milch gewonnenen Milchprodukten. Kondensmilch, Butter, Milchpulver, Käse, geriebener Käse und getrocknete Käseprodukte können durchaus Oxycholesterine enthalten (FISCHER et al., 1985).

1.3. Biologische Wirkungen der Oxycholesterine

1.3.1. Cytotoxische Wirkung

Im Jahre 1976 isolierten IMAI et al. beim Umkristallisieren eines fünf Jahre alten, den US-Pharmakopöe-Vorschriften entsprechenden CH mehrere Verunreinigungen. Bei peroraler Verabreichung des in der Mutterlauge enthaltenen Stoffgemisches an Kaninchen, konnten bereits nach 24 h schwere arterielle Schäden mit Zelltod und Ödem der Intima festgestellt werden. Gereinigtes CH dagegen verursachte keine sichtbare Zunahme an geschädigten Zellen.

Nach dünnsschicht- und gaschromatographischer Auftrennung des Konzentrats aus diesem gealterten CH, fanden PENG et al. (1978) darin verschiedene Autoxidationsprodukte des CH. Bei Überprüfung der einzelnen Oxycholesterin-Fractionen auf ihre Wirkung in Kulturen aus glatten Aortenmuskelzellen von Kaninchen zeigte sich, daß 25-OH-CH am stärksten cytotoxisch war, gefolgt von der Fraktion, die $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol enthielt (PENG et al., 1979). Neben diesen beiden genannten Substanzen waren nach HIGHLEY und TAYLOR (1984) unter anderem auch das 5,6-Epoxy-CH cytotoxisch. Der Grad der Cytotoxizität scheint also bei den einzelnen Oxycholesterinen unterschiedlich zu sein.

Cytotoxische Wirkungen verschiedener Oxycholesterine wurden auch an L-Zellen (KANDUTSCH et al., 1978; HIGHLEY und TAYLOR, 1984), Mäusefibroblasten, vaskulären Muskelzellen des Schweines (BARANOWSKI et al., 1982), menschlichen Fibroblasten (BROWN und GOLDSTEIN, 1974) und an Zellen von Hamstern (CHAN und CHAN, 1980) nachgewiesen.

1.3.2. Wirkungen auf die Cholesterinbiosynthese

Neben der cytotoxischen Wirkung hemmen die Oxidationsprodukte des CH die CH-Biosynthese. Dabei wird vor allem die Aktivität der 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA-Reductase, dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der CH-Biosynthese, durch bestimmte Oxycholesterine, besonders durch 25-OH-CH vermindert. Für diese blockierende Wirkung ist am CH-Molekül eine Hydroxyl- oder Ketongruppe in der Position 3 sowie eine zweite Hydroxyl- oder Ketongruppe in den Positionen 6,7,15,20,22,24 oder 25 erforderlich (CHEN und KANDUTSCH, 1976).

Ein Folgeeffekt der Suppression der CH-Biosynthese durch Oxycholesterine ist

eine Wachstumsverzögerung an kultivierten Zellen, wie sie an menschlichen Fibroblasten (BROWN et al., 1975), L-Zellen der Maus (CHEN et al., 1974), Muskelzellen der Ratte (CORNELL et al., 1977) und an Zellen der Ovarien von Hamstern (NELSON et al., 1978) aufgezeigt wurde. An menschlichen Fibroblasten konnte bei Zugabe von exogenem CH oder LDL, nicht aber durch HDL, die Inhibierung des Wachstums aufgehoben werden. CH-Biosynthese und Zellwachstum werden jedoch auch in vivo gehemmt, wie Versuche an Ratten (IMAI et al., 1967) und Mäusen (KANDUTSCH et al., 1977) zeigen. Bei Affen erniedrigte 15-Keto-CH den Gehalt des Serumcholesterins (SCHRÖPFER et al., 1984).

1.3.3. Wirkungen auf die DNS-Synthese

Mit der hemmenden Wirkung der Oxycholesterine auf die CH-Biosynthese und das Wachstum geht eine Verminderung der DNS-Biosynthese einher. An L-Zellen von Mäusen, die mit 25-OH-CH behandelt wurden, nahm die DNS-Syntheserate fortschreitend ab, um schließlich vollständig zu sistieren. Eine damit verbundene Verzögerung der Proteinbiosynthese scheint nicht durch eine direkte Hemmung begründet, sondern eine Folge der verminderten DNS-Biosynthese zu sein (KANDUTSCH und CHEN, 1977). Eine Supprimierung der DNS-Synthese und damit verbundene Transformationen an Lymphoblasten wurden auch an mitosestimulierten Mäuselymphozyten (CHEN et al., 1975) und an menschlichen Lymphozyten (YACHNIN et al., 1978, 1979, 1980) beobachtet. Auch diese Effekte sind durch Mevalonsäure, einem Metaboliten der CH-Biosynthese, oder durch CH reversibel. Mit der Beeinflussung der DNS-Synthese durch Oxycholesterine scheinen auch kanzerogene (BISCHOF, 1969; BLACK und CHAN, 1976) und mutagene Wirkungen (SEVANIAN und PETERSON, 1984) erklärbar.

1.3.4. Wirkung auf Membranmorphologie und -funktion

Das Sterol CH ist bekanntlich neben den Phospholipiden ein wichtiger Bestandteil biologischer Membranen. Bezogen auf das flüssige Membranmosaikmodell von SINGER und NICOLSON (1972) erzeugen molekulare Interaktionen zwischen Sterolen und Phospholipiden eine gewisse Immobilität derjenigen Lipidmolekülteile, welche in der Nähe der Membranninnen- bzw. -außenfläche liegen, während die

in das hydrophobe Membraninnere ragenden Acylketten und Sterolseitenketten mehr Bewegungsfreiheit besitzen. Diese Konstellation wird als "halbflüssiger Zustand der Membran" bezeichnet (CHAPMAN, 1975).

Änderungen der Membranfluidität haben mannigfaltige Auswirkungen auf Form und Funktion der Zelle. COOPER et al. (1975) zeigten, daß ein erhöhtes CH/Phospholipid - Verhältnis und damit eine reduzierte Membranfluidität die Deformierbarkeit von Erythrozyten vermindert.

Für die Wirkungen der Oxycholesterine auf Membranen kommen zwei mögliche Mechanismen in Betracht: einerseits führt die bereits angesprochene Hemmung der CH - Biosynthese zu einer CH - Verarmung der Zellmembran (KANDUTSCH und CHEN, 1977); andererseits lockern die Oxycholesterine als Strukturanaloga des CH durch ihre zusätzliche Hydroxy - und Ketogruppe im Molekül die Packungsdichte der Kohlenwasserstoffketten in der Lipiddoppelschicht der Membran (YACHNIN et al., 1979). Damit ist auch die Fähigkeit gestört, CH in die Zellmembran aufzunehmen.

Gerade bei Zellen der Arterienwand, die selbst nur eine sehr geringe CH - Syntheserate besitzen, scheint dies von Bedeutung zu sein (PENG et al., 1985). Beide Mechanismen bewirken eine erhöhte Fluidität der Membranen (MILL et al., 1980; DEMEL und DE KRUYFF, 1976), was tiefgreifende Störungen der Zellmorphologie und -funktionen zur Folge hat.

So wird durch Oxycholesterine bei menschlichen T - Lymphozyten in vitro die Fähigkeit, mit Schafer erythrozyten E - Rosetten zu bilden, blockiert. Wenn menschliche Erythrozyten in einem cholesterinarmen Medium mit Oxycholesterinen inkubiert werden, kommt es zu einer Verminderung der osmotischen Fragilität der Zellen (STREULI, 1983).

Überdies kann $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol die Geschwindigkeit des Hexosetransportes in glatten Aortenmuskelzellen signifikant hemmen (HILL et al., 1984). Dieses Derivat, wie auch 25 - OH - CH können die Aktivität der 5 - Nucleotidase und der ATPase in isolierten Membranen und plasmamembranen - angereicherten Fraktionen von Aortazellen erniedrigen (PENG et al., 1985). HERIAN et al. konnten an *Mycoplasma gallisepticum* Kulturen, die selbst nicht fähig sind, CH zu synthetisieren, nachweisen, daß $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol zu 26% in die Membranen eingebaut wird. Dieser Umbau der Membranen führte zu einer signifikanten Wachstumshemmung.

1.3.5. Atherogene Wirkung

An Kaninchen (IMAI et al., 1976) wurde gereinigtes CH wie auch ein Konzentrat von Oxidationsprodukten über 45 Tage verfüttert. PENG et al. (1982) verabreichten Totenkopffäffchen 2 bis 6 Monate lang 25-OH-CH. Bei den Tieren, die Oxycholesterine erhielten, konnten im Lichtmikroskop Verdickungen der Aortenintima festgestellt werden. Gereinigtes CH verursachte dagegen keine Läsionen. Wurden an Kaninchen täglich über drei Tage $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol, 25-OH-CH und 5,6-Epoxy-CH intravenös verabreicht, so konnten bei Neuseeländer Weissen 24 h nach der dritten Injektion ein erhöhtes Absterben von Zellen der glatten Aortenmuskulatur, und bei japanischen Kaninchen nach 24 h starke Nekrosen der Aorta gesehen werden (IMAI, 1980). Diese Schädigungen waren auch mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops zu sehen (PENG et al., 1985). Da die Wirkungen der Oxycholesterine zum Großteil in vitro getestet wurden, taucht die Frage auf, welche Tierart sich für in vivo-Versuche möglichst auch unter dem Gesichtspunkt der Vergleichbarkeit mit dem Menschen eignet.

1.4. Das Schwein als Arteriosklerosemodell im Vergleich mit anderen Tierarten

Bei den verschiedensten Tierarten werden atherosklerotische Gefäßveränderungen gesehen. Im Jahre 1913 fand ANITSCHKOW bei mit CH gefütterten Kaninchen Läsionen, die für Atherosklerose typisch waren. Im Laufe der Zeit wurden von den kleinen Labortieren Hamster und Ratte, über Hund und Schwein (LUGINBÜHL et al., 1965) bis zu gewissen Affenarten (Pavian, MC GILL, 1960; Squirrel Monkey, PENG et al., 1982) ähnliche Veränderungen beschrieben. Selbst in der Klasse der Vögel sind gewisse Hühner-, Truthühner- und Taubenrassen anfällig (GRESHAM et al., 1965; LOFLAND et al., 1959). Im Vergleich zum Menschen ergeben sich bei den einzelnen Tierarten jedoch sowohl qualitativ wie quantitativ zum Teil erhebliche Unterschiede.

1.4.1. Physiologische Unterschiede

Während Ratte und Maus zumindest ursprünglich den Granivoren zugeordnet werden, Hund und Katze den Carnivoren angehören und schließlich die Lagomorphen als strenge Vegetarier den Herbivoren zugerechnet werden, zeigt sich das Schwein wie der Mensch als Omnivore. So bestehen mit gewissen Einschränkungen für die Physiologie der Ernährung und Verdauung zwischen Schwein und Mensch gute Übereinstimmung (FRIEDRICH, 1968; KALICH et al., 1968; MAGEE und HONG, 1966). Die Physiologie von Herz und Kreislauf des Schweines ist derjenigen des Menschen ähnlicher als etwa die von Hund und Katze (BEGLINGER, 1981). Auch omnivore Primaten, vorzugsweise Menschenaffen wären aus ernährungsphysiologischer Sicht ein gut geeignetes Tiermodell für den Menschen, doch sowohl Kosten, als auch gesetzliche Bestimmungen begrenzen deren Einsatz als Versuchstier (HOUPt et al., 1979).

1.4.2. Pathologische und anatomische Unterschiede

Aus der Sicht des Anatomen zeigt der Aufbau der Aorta und Herzerterien des Schweines große Ähnlichkeit mit dem des Menschen (FRENCH et al., 1965). Selbst was die Lage und die Verteilung der atherosklerotischen Läsionen und ihr histologisches Aussehen anbelangt, herrscht große Übereinstimmung (RATCLIFFE und LUGINBÜHL, 1971). Im Gegensatz zum elastischen Aortatyp von Schwein

und Mensch zeigt der Hund den muskulösen Typ. Ähnlich der Fettverteilung des Menschen entfällt auch beim Schwein der größte Anteil auf das subkutane Fettgewebe. Die Fettzellgröße und -zahl entsprechen der des Menschen (GURR et al., 1977). Die Stellung des Kaninchens als Modelltier wird von vielen Pathologen angezweifelt (HAUST, 1965; CONSTANTINIDES, 1965).

1.4.3. Biochemische Unterschiede

Im Hinblick auf Arteriosklerose war bisher besonders der CH-Stoffwechsel bei den verschiedenen Tierarten von Interesse. Oft wurden die Tiere stark cholesterinhaltigen Diäten ausgesetzt. Dabei wiesen manche Tierarten schwere Hypercholesterinämien auf. So überschritten Hühner, Kaninchen und sogar einige Primaten Serumcholesterinkonzentrationen von 1000 mg/dl. Beim Menschen dagegen kann nur ein geringer Anstieg der Serumcholesterinkonzentration diätetisch induziert werden (GRUNDY, 1983). Ähnlich resistent scheinen auch Ratte (TAYLOR, 1979), Hamster und Hund (WATERS, 1965) gegenüber Cholesterindiäten zu sein. Sie benötigen zusätzliche Manipulationen, um atherosklerotische Veränderungen erkennen zu lassen.

Trotz ihrer Fähigkeit, große Mengen Cholesterin zu absorbieren, entwickeln Ratten nur schwer Hypercholesterinämien (TURLEY et al., 1982). Aufgenommenes CH wird in der Leber sofort zu Gallensäuren transformiert (WILSON, 1964). Dieser Mechanismus scheint auch den Hund vor einer Hypercholesterinämie zu schützen (PERTSEMLIDIS et al., 1973). Beim Menschen wird nur ein geringer Anteil von hepatischem CH zu Gallensäuren umgesetzt (TURLEY et al., 1982). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen DUPONT et al. (1974) beim Miniaturschwein.

Zweifellos besteht bei Mensch und Tier eine enge Beziehung zwischen Hypercholesterinämie und Atherosklerose (EPSTEIN, 1978). Allerdings haben die Ergebnisse der Framingham-Studie beim Menschen gezeigt, daß die individuelle Vorhersagekraft des Gesamtcholesterinspiegels bezüglich Atherosklerose sehr gering ist. Nur in den Extrembereichen (<160 mg/dl, >320 mg/dl) ist der Gesamtcholesterinspiegel von prognostischer Bedeutung (KANNEL et al., 1979).

Was die Ausbildung von Hypercholesterinämien anbelangt, zeigen sich auch innerhalb ein und derselben Tierart Unterschiede. Dies deuten Untersuchungen an Primaten an. Einige Tiere "antworten" auf die CH-Diät mit einem Anstieg des Serumcholesterinspiegels, andere nicht (EGGEN, 1974). Ebenso zeigen Studien am Menschen, daß sich manche als "Responder", andere als "Nonresponder" verhalten

(MISTRY et al., 1981; KATAN et al., 1983). Dieses Phänomen beschreiben BEYNEN et al. (1983) auch beim Schwein.

Beim Vergleich der Dichteprofile von Serumlipoproteinen verschiedener Haus- und Labortiere legten TERPSTRA et al. (1982) erhebliche Unterschiede offen. Bei keiner der untersuchten Tierarten fanden sie ein Lipoproteinprofil, das identisch mit dem des Menschen war. Nur das Schwein wies eine dem Menschen ähnliche Verteilung des CH zwischen den verschiedenen Lipoproteinen auf. Bei beiden Spezies bildet die LDL - Fraktion den Hauptträger des Serumcholesterins.

Bei den Labortieren Kaninchen, Ratte und Maus dagegen wird der größte Anteil des Serumcholesterins von der HDL - Fraktion transportiert.

DAVIS et al. (1974) stellten die HDL von Schweinen anderen Spezies gegenüber. Sie folgerten, daß zwischen den HDL des Schweines und des Menschen in Struktur und Zusammensetzung große Ähnlichkeit besteht.

1.4.4. Unterschiede aus versuchstechnischer Sicht

Auch aus versuchstechnischer Sicht bringt das Schwein, insbesondere das Miniaturschwein, gegenüber anderen Tierarten gewisse Vorteile. Bedingt durch seine Größe können, verglichen mit anderen Labortieren, Blutproben größerer Volumina leicht entnommen werden.

Chirurgische Eingriffe (ELLENDORFF et al., 1981), wie sie z. B. beim Legen eines Portalvenenkatheters oder Ilealbypaßes (SCHOUTEN et al., 1985) durchgeführt werden müssen, sind unproblematisch.

1.5. Problemstellung

Die Atherogenität von Oxycholesterinen in Fütterungsversuchen wurde bisher nur an Kaninchen und Totenkopffäffchen aufgezeigt. Die einzelnen Wirkungen der Oxycholesterine wurden größtenteils in vitro geprüft. Da das Schwein als ein weit besseres Atherosklerosemodell für den Menschen gilt, wurden Minipigs für die Versuche gewählt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu prüfen, ob die Oxycholesterine $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol, 25 - OH - CH und 5,6 - Epoxy - CH, peroral verabreicht, beim Schwein bestimmte Plasmaparameter beeinflussen.

Wenn diese Oxycholesterine, die sich beim Kaninchen als besonders angiotoxisch erwiesen, auch beim Schwein Atherosklerose hervorrufen, sollten diese pathologisch faßbaren Veränderungen ein biochemisches Korrelat besitzen.

Falls Oxycholesterine den Hexosetransport auch in vivo hemmen, müßte diese Wirkung eine Veränderung der Glucose- und Insulinspiegel im Plasma zur Folge haben. Die Plasmaparameter Glucose und Insulin wurden auch deshalb bestimmt, um einen eventuellen Risikofaktor für Atherosklerose Diabetes mellitus (ASSMANN, 1982) ausschliessen zu können.

Auch die FFS sind als Kausalfaktoren an der Pathogenese der Atherosklerose beteiligt (HERRMANN und MASSMANN, 1976). Mögliche Konzentrationsveränderungen der FFS im Plasma sollten überprüft werden. Hinweise dafür bringen PENG et al. (1985) bei Kulturen glatter Aortenmuskelzellen. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Oxycholesterine steigerten dort die Fettsäuresynthese um rund 52% im Vergleich zur Kontrollkultur. Von erhöhten FFS-Konzentrationen im Plasma, sogenannten Hyperlipazidämien, berichten auch HERRMANN und MASSMANN (1976) bei Patienten mit Arteriosklerose. Beim Schwein sind ähnliche Ergebnisse bekannt (KADZIOLKA und GASIOR, 1983).

Um einen Einblick in den CH-Stoffwechsel zu erhalten, wurden die LDL- und HDL-CH-Konzentrationen im Plasma bestimmt. Würde in vivo die CH-Biosynthese gehemmt werden, müßte sich diese Wirkung in der LDL- und HDL-CH-Fraktion abzeichnen.

Außerdem wird beim Menschen eine Konzentrationserhöhung des LDL-CH im Plasma als obligat atherogen betrachtet (ASSMANN und SCHRIEWER, 1980). Für ähnliche Verhältnisse spricht beim Schwein eine positive Korrelation des LDL-CH-Spiegels mit atherosklerotischen Veränderungen. So müßte sich die Atherogenität von Oxycholesterinen in einer Konzentrationsänderung des LDL-CH andeuten.

Im Gegensatz zum Risikofaktor LDL-CH scheint die HDL-CH-Fraktion zumindest beim Menschen einen Schutzfaktor der Atherosklerose darzustellen (WILSON et al., 1980).

Falls sich die Atherogenität von Oxycholesterinen auch beim Schwein bestätigen sollte, müßte dieser Befund ein Absinken der HDL-CH-Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe hervorrufen.

Um abzuklären, ob Oxycholesterine in vivo in Zellmembranen eingebaut werden, wurde an Erythrozyten ein Membranfragilitätstest durchgeführt. Gerade die Erythrozyten, die CH nicht selbst synthetisieren können, sind auf CH von außen angewiesen. Daher müßte sich an Erythrozyten eine eventuelle Membranstabilitätsveränderung durch Oxycholesterine besonders gut nachweisen lassen.

Da die Entwicklung atherosklerotischer Läsionen in längeren Zeiträumen vonstatten

geht, wurde der Fütterungsversuch auf eine Dauer von 9 Monaten ausgelegt. Um eine Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse für den Menschen zu ermöglichen, wurde die energetische Nährstoffzusammensetzung des Versuchsfutters entsprechend den Ernährungsgewohnheiten der bundesdeutschen Bevölkerung ausgerichtet.

Darüberhinaus sollte eine ausreichende Zufuhr von Oxycholesterinen gewährleistet werden. Deshalb wurde dem Versuchsfutter ca. die 30-fache Menge an Oxycholesterinen zugesetzt, die ein Bundesbürger durchschnittlich pro Tag zu sich nimmt. Dabei wurde von einer durchschnittlichen täglichen Aufnahme von 500 mg CH (JUNGERMANN und MÖHLER, 1984) mit einem Oxidationsgrad von 2% (FISCHER et al., 1986) ausgegangen. Während der Mensch also ca. 10 mg Oxycholesterin pro Tag aufnimmt, wurden den Versuchstieren 300 mg Oxycholesterin pro Tier und Tag verabreicht. Mit 78 g Oxycholesterin über den gesamten Versuchszeitraum sollte die Versuchsgruppe eine Menge erhalten, die etwa der Dosis entspricht, die ein Mensch in seinem Leben zu sich nimmt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiermaterial

Als Versuchstiere standen 48 Minipigs des Stamms Münchner Miniaturschwein Troll^R zur Verfügung, die sich aus je 24 männlichen und 24 weiblichen Tieren zusammensetzten. Die Tiere konnten sich 24 Tage vor Versuchsbeginn an die neuen Umweltverhältnisse anpassen. 15 Tage vor Versuchsbeginn wurden die 24 männlichen Tiere kastriert, um einen Einfluß von Androgenen zu verhindern (KHAN et al., 1982). Für die unbedeckte Kastration mit Filovet-Ligatur und Emaskulator wurden die Tiere durch intraperitoneale Injektion von 2 mg/kg KGW Azaperon (Janßen, Neuss) und 10 mg/kg KGW Metomidat (Janßen, Neuss) narkotisiert. Die 48 Minipigs hatten bei Versuchsbeginn ein durchschnittliches Alter von 110 Tagen ($s = 11,16$; $VK = 10,15$). Je 24 Tiere bildeten die Versuchs- und Kontrollgruppe, die aus jeweils 12 weiblichen und 12 männlich-kastrierten Tieren bestanden. Bei der Einteilung wurde darauf geachtet, daß die Tiere der Kontroll- bzw. der Versuchsgruppe im Durchschnitt gleich schwer waren. Bei Versuchsbeginn betrug das durchschnittliche Körpergewicht (KGW) der weiblichen Kontrolltiere $10,20 \pm 2,48$ kg, das der weiblichen Versuchstiere $10,20 \pm 2,27$ kg. Die männlichen Kontrolltiere wogen durchschnittlich $10,29 \pm 1,20$ kg, die männlichen Versuchstiere $10,28 \pm 1,80$ kg.

2.2. Versuchsanlage

Der Versuch wurde in drei Abschnitten durchgeführt.

Abschnitt I dauerte je nach Tötungstermin 137 bis 144 Versuchstage. Es wurden zu diesem Zeitpunkt je sieben Kontroll- bzw. Versuchstiere im Institut für Tierpathologie der Universität München getötet, um mittels pathologisch-anatomischer und pathohistologischer Untersuchungen der Aorta und Koronararterien mögliche atherosklerotische Gefäßveränderungen im Frühstadium zu erkennen.

Zum Abschnitt II hin, der zwischen dem 208. und 218. Versuchstag endete, wurden jeweils acht Kontroll- bzw. Versuchstiere durch intravenöse Injektion von 0,5 mg/kg KGW Azaperon (Janßen, Neuss) und 3,75 mg/kg KGW Metomidat (Janßen, Neuss) in tiefe Narkose gelegt und mittels 1,2 g/Tier Embutramid (Höchst, Unterschleißheim) euthanasiert. Das dabei gewonnene Probenmaterial

wurde für weiterführende biochemische Untersuchungen verwendet.

Die restlichen 18 Tiere erreichten Versuchsabschnitt III (Zeitpunkt 277. bis 285. Versuchstag). Auch diesmal wurden Aorta und Koronararterien asserviert, um sie in gleicher Weise wie in Abschnitt I zu untersuchen. Eventuelle atherosklerotische Angiopathien im Spätstadium sollten hier erfaßt werden.

Die getöteten Tiere entstammten nach Anzahl und Geschlechtsverteilung jeweils zu gleichen Teilen den Kontroll- bzw Versuchsgruppen. Die zu tötenden Tiere für den Versuchsabschnitt I und II wurden nach dem Kriterium "Futteraufnahme im Versuchszeitraum pro kg Lebendmasse" ausgewählt.

2.3. Versuchstierhaltung und Fütterung

Pro Box wurden immer zwei Tiere verschiedenen Geschlechts aufgestellt, so daß die 48 Tiere in 12 Versuchs- und 12 Kontrollboxen aufgeteilt waren. Die Boxen bestanden aus einem Liegeplatz mit Betonboden und einem Kotplatz mit Lochblechen oder Gitterrosten. Die Tiere wurden einstreulos gehalten. Über Nippeltränken konnten die Tiere Wasser ad libitum aufnehmen. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (8 Uhr und 15.30 Uhr) mit einem speziell für diesen Versuch zusammengestellten Futter (siehe Tab.1 und Tab.2).

Den Hauptträger des Fettanteiles der Ration (siehe Tab.2) stellt Kokosfett dar, das als pflanzliches Fett kein CH enthält. Es wurde absichtlich ein pflanzliches Fett gewählt, um eine Autoxidation des CH während der Lagerung des Futtermittels ausschließen zu können. Außerdem besitzt Kokosfett einen hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren, deren Prozentsatz in der menschlichen Ernährung eine große Rolle spielt (siehe Tab.3).

Tabelle 1: Zusammensetzung des Versuchsfutters in Gewichtsprozenten

54,5	%	Maisschrot
24,0	%	Sojaextraktionsschrot (getrocknet, dampferhitzt)
17,0	%	Kokosfett
1,8	%	Dicalciumphosphat
0,87	%	Calciumcarbonat
0,43	%	NaCl
0,20	%	Allgemeine Vitamin – Vormischung
0,125	%	Spurenelement – Vormischung Schwein
0,075	%	Cholinchlorid (50%)
1,0	%	Fett – Vormischung
100,000	%	

Tabelle 2: Prozentualer Anteil einzelner Nährstoffe im Futter in Gewichtsprozenten

14,9	%	verd. Rohprotein
18,9	%	verd. Rohfett
0,1	%	verd. Rohfaser
42,3	%	NFE
100,0	%	

Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, daß die prozentuale Zusammensetzung der einzelnen Nährstoffe im Versuchsfutter annähernd die Werte erreicht, die nach dem Ernährungsbericht 1984 durchschnittlich für die adulte Bundesbevölkerung ermittelt wurden.

Tabelle 3: Vergleich der prozentualen Anteile energieliefernder Nährstoffe im durchschnittlichen Nahrungsverbrauch der Bundesbürger (Ernährungsbericht 1984) und im Versuchsfutter pro Tag

		Versuchsdiät	Erwachsene Bundesbevölkerung
Nahrungsenergie verbrauch (MJ)		17	14
davon	% Protein	16 %	12 %
	% Kohlenhydrate	41 %	41 %
	% Fett	41 %	38 %
	darin enthalten:		
	% gesätt. Fettsäuren	15 %	15 %

Als Oxycholesterine wurden 25-Hydroxy-CH₃, 5,6-Epoxy-CH₃ und 3 β ,5 α ,6 β -Cholestantriol verwendet.

Den Tieren der Versuchsgruppe wurden die Oxycholesterine über die Fett-Vormischung verabreicht. Das Futter der Kontrolltiere entsprach in seiner Zusammensetzung dem der Versuchstiere. Es wurde nur auf die Zugabe der Oxycholesterine verzichtet. Tabelle 4 zeigt die Zusammensetzung der Fett-Vormischung.

Tabelle 4: Fett – Vormischung für je 100 kg Futter

Lösungsmittel für die Oxycholesterine	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Isovaleriansäure	404 ml	404 ml, darin 10,1 g Triol + 10,1 g 25 – OH
Sojaöl	404 ml	404 ml, darin 10,1 g Epoxid
Sojaöl z. Nachspülen		
u. Gewichtseinstellung auf	979,7 g	1010 g

Um eine gleichmäßige Verteilung der Oxycholesterine im Futter zu erreichen, wurde das Futtermittel in 20 kg – Portionen gemischt. Für 20 kg Versuchsfutter wurden 200 g Fett – Vormischung eingewogen.

Bis zum 105. Versuchstag wurden die Tiere nach dem Prinzip des "paired feeding" gefüttert. Eine unterschiedliche Gewichtsentwicklung der Kontroll – und Versuchsgruppe sollte damit verhindert werden, zumal den Oxycholesterinen eine verzehrs-depressive Wirkung zugeschrieben wird (KANDUTSCH et al., 1977).

Dazu wurde jeweils eine Kontrollbox mit einer Versuchsbox hinsichtlich des Futterverzehrs verglichen. Es wurde darauf geachtet, daß die Tiere dieser Paarungen ungefähr gleiches Körpergewicht besaßen. Eine Rückwaage des in den Trögen zurückgelassenen Futters erfolgte vor der morgendlichen Fütterung und um 11 Uhr vormittags. Daraus wurde der tatsächliche Futterverzehr errechnet, die Gruppenpaarungen verglichen, und die Futterration für den nächsten Tag so bestimmt, daß beide Gruppen letztendlich die gleiche Futtermenge aufnahmen.

Da sich bis zum 105. Versuchstag keine Unterschiede in der Futteraufnahme zwischen Kontroll – und Versuchsgruppe abzeichneten, wurden die Tiere von diesem Zeitpunkt an mit 1 kg Futtermittel pro Tier und Tag gefüttert.

2.4. Probengewinnung

Im Versuchszeitraum wurde den Schweinen insgesamt 13 mal Blut entnommen. An den 13 Blutentnahmetermen wurden jeweils die Plasmakonzentrationen der Parameter Glucose, Freie Fettsäuren (FFS) und Insulin bestimmt.

Am 10. und 13. Blutentnahmeterm wurden zusätzlich die LDL- und HDL-CH-Konzentration im EDTA-Plasma festgestellt. Mit dem Heparinblut wurde an diesen beiden Tagen ein osmotischer Erythrozytenfragilitätstest durchgeführt. 16 h vor dem jeweiligen Blutentnahmeterm wurde den Tieren das Futter entzogen. Der Abstand der einzelnen Blutentnahmen lag zwischen 14 und 42 Tagen, durchschnittlich bei 22,75 Tagen.

An den ersten vier Blutentnahmetermen wurde das Blut mittels der von VOLLMERHAUS et al. (1982) beschriebenen Methode gewonnen. Dabei wurden die Tiere in Rückenlage in einer speziell dafür entwickelten trogähnlichen Vorrichtung fixiert. Durch Punktion der Vena cava cranialis wurde Blut gewonnen.

An den folgenden neun Blutentnahmetermen erfolgte die Blutentnahme am mittels Oberkieferschlinge fixierten, stehenden Tier (BOLLWAHN et al., 1982). Hier wird die Vena jugularis punktiert.

Für die Gewinnung der Blutproben wurden die verwendeten Kanülen (Fa. Braun, Melsungen AG) der Größenzunahme der Tiere während des Versuchszeitraumes angepaßt. Der Durchmesser betrug 0,8 bis 2,0 mm und die Länge 80 bis 150 mm. Sämtliche Blutproben wurden mit Hilfe von Sicherheitsmonovetten (Fa. Sarstedt, Numbrecht) gewonnen. Von jedem Tier wurden zuerst 10 ml Blut in einer Monovette mit Kalium-EDTA als Gerinnungshemmer, dann 10 ml Blut mit einer Monovette mit Ammonium-Heparinat entnommen. Die Dauer der Blutprobenentnahme betrug ca. 2 Minuten. Jede Blutprobe wurde sofort nach der Entnahme im Eisbad (0°C) gekühlt und anschließend baldmöglichst zur Plasmagewinnung zentrifugiert (10 min. bei 3000 × g). Das EDTA- und Heparinplasma wurde entsprechend der Anzahl und Art der Messungen in Polypropylen-Reaktionsgefäße (Fa. Treff, Schweiz) portioniert und bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

2.5. Analytische Methoden

2.5.1. Glucose

Die Glucosekonzentration wurde enzymatisch mit einer auf einer Farbreaktion beruhenden Testkombination (Glucose - GOD - Perid Methode, Fa. Böhlinger, Mannheim; Glucoseoxidase EC 1.1.3.4 und Peroxidase EC 1.11.1.7) photometrisch bei $\lambda = 578$ nm bestimmt. Dazu mußte das Heparinplasma vorher mit einer 0.3 M HClO_4 in einer Verdünnung von 1:11 enteiweißt werden.

Die Glucosekonzentration in einem selbst hergestellten wäßrigen Standard (1,86 mmol/l, 3,58 mmol/l, 7,52 mmol/l) wurde mit diesem Analyseverfahren zu $98,66 \pm 3,11$ % wiedergefunden ($n = 10$). Die Präzision betrug $1,07 \pm 0,28$ %.

2.5.2 Insulin

Die Konzentration des Insulins im Plasma wurde über einen spezifischen Radioimmunttest bestimmt (INSIK 5, Insulin Radioimmunoassay Kit, Isotopen Diagnostik CIS GmbH, Dreieich) bestimmt.

Das Prinzip dieses Radioimmunoassays beruht auf der Konkurrenz des ^{125}J -markierten Hormons und des unmarkierten Hormons in Standard und Proben um eine begrenzte Anzahl spezifischer Antikörper. Nach einer Inkubation verhält sich die Menge an antikörpergebundenem, markiertem Hormon umgekehrt proportional zu der Menge an unmarkiertem Hormon. Das antikörpergebundene, markierte Hormon wird durch Zugabe eines zweiten Antikörpers ausgefällt und abzentrifugiert. Die Aktivität des Präzipitates wird nach Dekantieren des Überstandes in einem Gamma-Zähler gemessen (Auto-Gamma 500; Packard Instruments, Frankfurt).

Die untere bzw. obere Nachweisgrenze der Bestimmungen lag bei $2,5 \mu\text{U/ml}$ bzw. $200 \mu\text{U/ml}$ Insulin.

Die Spezifität der Insulinbestimmung betrug 100 % für Insulin mit 0,25 % bzw. weniger als 0,07 % Kreuzreaktion für Glucagon bzw. C-Peptid.

2.5.3. Freie Fettsäuren

Die Konzentration der FFS wurde durch einen enzymatischen Farbtest (NEFA - C, WAKO Chemicals GmbH, Neuss) in den EDTA - Plasmaproben ermittelt. Durch drei aufeinanderfolgende Enzymreaktionen wird schließlich durch oxidative Kondensation mit H_2O_2 ein roter Quinon - Farbstoff gebildet, dessen Konzentration der Konzentration unveresterter Fettsäuren in der Probe proportional ist.

Die Konzentration der FFS in einem selbst hergestellten wäßrigen Standard (301 $\mu\text{mol/l}$, 557 $\mu\text{mol/l}$) wurde zu $100,91 \pm 1,84 \%$ wiedergefunden ($n = 10$). Dabei betrug die Präzision $1,77 \pm 0,78 \%$. Die Linearität des NEFA - C - Tests wurde auch in dem niedrigen Konzentrationsbereich zwischen 100 $\mu\text{mol/l}$ und 500 $\mu\text{mol/l}$ mit $r = 0,9995$ abgesichert.

In Vorversuchen wurde die titrimetrische Bestimmung der Carboxylgruppen (ANNISON, 1960) der aus dem Plasma extrahierten FFS (DOLE, 1956) durchgeführt. Verglichen mit der NEFA - C - Methode erbringt diese Methode keine Vorteile. Mit der zeitaufwendigen Extraktion ist gleichzeitig eine zusätzliche Fehlerquelle verbunden. Das Erkennen des Farbumschlagpunktes erscheint subjektiv unterschiedlich, erfordert deshalb eine gründliche Einarbeitungszeit und ist von ständig gleichen Lichtverhältnissen abhängig. Außerdem ist ein relativ großes Plasmavolumen pro Bestimmungasatz (2 ml) nötig. Bei dem verwendeten Halbmikroansatz des NEFA - C Testes genügte der Einsatz von 0,02 ml Probenvolumen.

Die beiden Methoden erbrachten quantitativ eine gute Übereinstimmung. MULDER (1983) vergleicht enzymatische, gaschromatographische und kolorimetrische Methoden der FFS - Bestimmung. Nachdem auch die Präzision und Wiederfindung eines Standards bei der Titrationsmethode nicht besser war, entschieden wir uns für die enzymatische Methode.

In einem zweiten Vorversuch wurde der Einfluß der Gerinnungshemmer Citrat, Heparin und EDTA auf die quantitative Bestimmung der FFS mit dem NEFA - C Test untersucht. Dazu wurden Blutproben von sechs verschiedenen Schlachtschweinen (ca. 100 kg KGW) mit 10 ml - Sicherheitsmonovetten aufgezogen, die jeweils einen der drei Gerinnungshemmer enthielten. Zur Plasmagewinnung wurden die Proben 10 min. bei $3000 \times g$ zentrifugiert. Die Konzentration an FFS im EDTA - Plasma wurde mit 100 % als Bezugspunkt angesehen. Im Heparinplasma wurden 120,4 %, im Citratplasma nur 92,1 % der Konzentration im EDTA - Plasma ermittelt. Die im Vergleich zum EDTA - Plasma höhere Konzen-

tration im Heparin-Plasma stimmt mit den Angaben von WAKO Chemicals überein. MATSUBARA (1983) dagegen berichtet bei Zusatz von Heparin als Antikoagulans von falsch erniedrigten FFS-Werten.

2.5.4. LDL – Cholesterin und HDL – Cholesterin

Bei der Analyse von Lipoproteinen und Lipiden gelten besondere Vorichtsmaßnahmen. Darüber gibt COOPER (1982) genaue Hinweise. Aufgrund der Größe und der relativ schwachen Bindungskräfte zwischen den Lipid-Proteinkomplexen wurden die Plasmaproben bei der Blutentnahme, der Vorbereitung und der Aufbewahrung sehr schonend behandelt. Für die Plasmaproben wurde EDTA als Antikoagulans verwendet.

Es gilt als das bevorzugte Antikoagulans bei Lipoproteinbestimmungen, da es Schwermetallionen, die zur Autoxidation von Lipiden führen (NISHIDA et al., 1960), wie z.B. Cu^{2+} , als Chelatkomplexbildner bindet. Lipidoxidation hat immer eine Denaturierung der Lipoproteine zur Folge, sodaß die physikalischen Eigenschaften verändert und die Apoproteine zerstört werden (SCHUH et al., 1978). EDTA verzögert auch Konzentrationsveränderungen der Lipoproteine, die durch bakterielle Kontamination der Proben verursacht werden. Es inhibiert das Enzym Phospholipase C, das von gewissen Bakterien gebildet wird (KNÖTGEN et al., 1976). Die Plasmaproben für diese beiden Parameter wurden nicht eingefroren und noch am Entnahmetag bestimmt (WARNICK, 1981).

2.5.4.1. LDL – Cholesterin

Der CH-Gehalt der LDL wurde mit Hilfe des β -Lipoprotein C Tests (WAKO Chemicals, Neuss) bestimmt. Diese Methode beruht auf einer selektiven Fällung der β -Lipoproteine mit Heparin und Ca^{2+} . Die Messung der LDL-CH Konzentration im Niederschlag erfolgte enzymatisch nach der Cholesterinoxidase-PAP-Methode. Die Berechnung der Konzentration erfolgte über einen bei allen Bestimmungen mitgeführten LDL-CH Standard (2,266 mmol/l). Die Linearität dieses Tests wurde mit einer Standardreihe im Bereich zwischen 0,91 mmol/l und 4,53 mmol/l geprüft. Um eine Aussage über die Richtigkeit der Bestimmung machen zu können, wurde ein Kontrollserum der Fa. Böhringer, Mannheim (Precinorm L) verwendet. In diesem Kontrollserum ist allerdings die tatsächliche LDL-CH Konzentration nicht angegeben, sondern nur

ein Konzentrationsbereich. Auf den Mittelwert dieses Konzentrationsbereichs bezogen, ergibt sich eine Wiederfindung von 121,70 %. Die Präzision, angegeben als Prozent der Standardabweichung vom Mittelwert (Variationskoeffizient VK), betrug bei sieben Bestimmungen des gleichen Kontrollserums pro Ansatz 1,88 %. Die LDL - CH Konzentrationsangaben wurden auf 100 % (= Faktor 0,82) umgerechnet.

2.5.4.2. HDL - Cholesterin

Zur Bestimmung der HDL - CH Konzentration wurde Polyethylenglykoll 6000 als Fällungsreagenz verwendet. IZZO (1981) beschreibt diese Methode ausführlich. Das Fällungsreagenz wird hergestellt, indem man 20 g Polyethylenglykoll 6000 (lot no. 81260, Fluka AG, Chemische Fabrik, CH - 9470 Buchs SG) und 1,50 g (20 mmol) Glycin in ca. 60 ml aqua bidest. auflöst. Mit 1 M NaOH wird dann die Lösung auf pH 10 eingestellt, danach wird auf ein Volumen von 100 ml mit aqua bidest. aufgefüllt. Mit dieser Lösung werden außer den HDL alle anderen Lipoproteine ausgefällt. Die CH - Konzentration der im Überstand verbleibenden HDL wurde enzymatisch mittels der Cholesterinoxidase - PAP - Methode (Fa. Böhrringer, Mannheim) bestimmt. Die CH - Konzentration ist proportional der Extinktion der Probe und wird durch Faktormultiplikation berechnet. Zu 1 ml des EDTA - Plasmas wurde das gleiche Volumen an Fällungsreagenz zugegeben, dann 8 - 10 sec. lang geschüttelt und 10 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Mischung bei 1500 x g für 30 min. zentrifugiert. Das Zentrifugieren erfolgte, wie von WARNICK (1985) empfohlen, in einer Kühlzentrifuge bei 4°C. An den beiden Bestimmungstagen wurde, ähnlich wie bei der LDL - CH Bestimmung, für die Richtigkeit der HDL - CH Konzentration ein Kontrollserum (Special Control Serum for HDL - CH, Fa. Böhrringer, Mannheim) verwendet. Auch bei diesem Kontrollserum ist nur ein Konzentrationsbereich, aber nicht die tatsächliche Konzentration angegeben. Bezogen auf den Mittelwert dieses Kontrollbereichs ergibt sich eine Wiederfindung von $41,47 \pm 0,26$ %. Die Präzision bei Dreifachbestimmungen betrug an beiden Bestimmungstagen $2,48 \pm 0,20$ %. Der Wert der Richtigkeit wird gestützt von den Ergebnissen KRINNIGERS (1987), bezogen auf KRINNIGERS Werte beträgt die Richtigkeit $47,39 \pm 0,17$ %. Die folgenden HDL - CH Konzentrationsangaben wurden auf 100 % (Faktor 2,41) umgerechnet.

2.5.5. Osmotische Resistenz der Erythrozyten

Die Messung der osmotischen Fragilität richtete sich nach der von BEUTLER (1977) empfohlenen Methode. Dabei wird die Hämolyse von Erythrozyten in einer arithmetischen Verdünnungsreihe von 0,15 % bis 0,70 % NaCl-Lösung in 0,05 % Intervallen bestimmt.

Der Erythrozyt besitzt die Eigenschaften eines Osmometers. Er akkumuliert in hypotonem Milieu Wasser, vergrößert dabei sein Volumen und nimmt schließlich Kugelform an (GUEST et al., 1942). Bei weiterer Wasseraufnahme in die Zelle wird die Membran durchlässig für intrazelluläre Makromoleküle. Der Austritt von Hämoglobin ist dafür ein sichtbares und photometrisch meßbares (540 nm) Zeichen. Die prozentuale Hämolyse wurde bei der jeweiligen NaCl-Konzentration wie folgt berechnet:

$$\% \text{ Hämolyse} = \frac{E1...12 - E13}{E14} \times 100$$

- E1...12 = Extinktion bei 0.15...0.7 % NaCl-Lösung
 E13 = Extinktion bei 0,90 % NaCl-Lösung = Leerwert
 E14 = Extinktion bei aqua bidest.

2.6. Statistische Methoden

Die Meß- und Rechenergebnisse wurden als Mittelwerte verschiedener Tiere oder teilweise mehrerer Versuchswiederholungen mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) angegeben. Mit dem Variationskoeffizienten (VK in %) wurde die individuelle Variabilität charakterisiert.

Bei der Bestimmung der osmotischen Resistenz der Erythrozyten wurden die Mittelwerte der prozentualen Hämolyserate zwischen der Kontroll- und der Versuchsgruppe nach dem t-Test verglichen. Die Berechnung dieser Parameter, sowie die Berechnung von linearen Regressionen und den dazugehörigen Korrelationskoeffizienten r erfolgte nach SACHS (1972). Extrem hohe oder niedrige Werte innerhalb einer Meßreihe wurden als Ausreißer getestet und verworfen, wenn sie

außerhalb der 4 s Spanne vom Mittelwert lagen (SACHS, 1972).

Die Parameter Insulin, Glucose und FFS wurden einer multifaktoriellen (MANOVA), die Parameter LDL – CH und HDL – CH einer unifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Hilfe des SPSS^x – Softwarepaketes unterworfen (NIE et al., 1975; SCHUBÖ und UEHLINGER, 1984)

3. ERGEBNISSE

3.1. Konzentrationsverlauf der Plasmaparameter Glucose, Insulin und Freie Fettsäuren über den Versuchszeitraum

In den Abbildungen 2, 4 und 6 ist der Mittelwertsverlauf der jeweiligen Parameter dargestellt, wobei die Kontrollgruppe mit der Versuchsgruppe verglichen wird. Die Abbildungen 3, 5 und 7 zeigen ebenfalls einen Mittelwertsverlauf, jedoch getrennt nach Geschlecht. Bei den Parametern Glucose, Insulin und FFS ergibt ein Vergleich der Mittelwerte zwischen behandelten und unbehandelten Tieren keinen signifikanten Unterschied. Deshalb wird bei der folgenden Verlaufsbeschreibung der einzelnen Parameter auf eine nach Kontroll- und Versuchsgruppe getrennte Darstellung verzichtet.

Auf eine gesonderte Verlaufsbeschreibung der Geschlechter wird nicht eingegangen, da sie eine Teilgruppe bilden, deren Verlauf dem der gesamten Gruppe entspricht. Nur bei den FFS deutet sich ein Geschlechtseinfluß an ($p = 0.004$, Test nach Hotellings).

3.1.1. Konzentrationsverlauf der Glucose

Bei Versuchsbeginn liegt die Glucosekonzentration bei 5,4 mmol/l (siehe Abb.2). Sie steigt bis zum 4. Entnahmetermine (54. Versuchstag) auf ca. 7,0 mmol/l an, fällt danach wieder ab, um sich ab dem 6. Entnahmetermine (124. Versuchstag) auf ca. 4,7 mmol/l einzupendeln. Auffallend sind die relativ hohen Glucosespiegel während der ersten vier Entnahmetermine im Vergleich zu den späteren. Auch die VK liegen in diesem Zeitraum um das ca. zweifache höher als danach (siehe Tabelle 5). Dafür dürfte die Entnahmetechnik, die an den ersten vier Entnahmetermenien mit höherem Streß verbunden war (siehe Material und Methodik), ursächlich sein. Ein Vergleich des Verlaufs zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe mittels einer Trendanalyse ergibt keinen Unterschied.

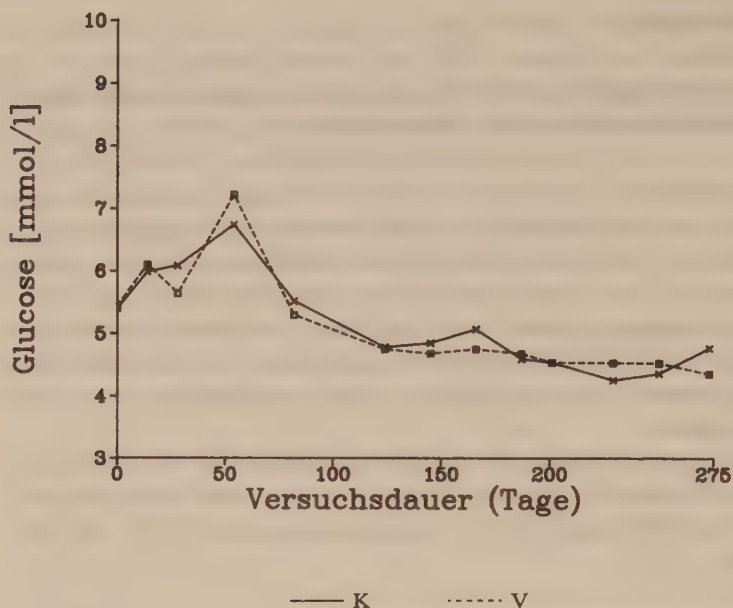


Abbildung 2: Mittelwertsverlauf des Plasmaparameters Glucose getrennt nach Kontrollgruppe (K) und Versuchsgruppe (V)

Tabelle 5: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) des Plasmaparameters Glucose mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Kontroll- und Versuchsgruppe

Kontrollgruppe					Versuchsgruppe			
VT	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	5.40	0.79	14.63	24	5.44	0.86	15.81	24
14	5.98	1.21	20.23	24	6.10	0.87	14.26	23
28	6.08	1.27	20.89	24	5.64	0.76	13.48	24
54	6.74	1.22	18.10	24	7.22	1.22	16.90	24
82	5.51	1.05	19.06	23	5.30	0.55	10.38	23
124	4.77	0.44	9.22	24	4.74	0.29	6.12	23
145	4.84	0.62	12.81	17	4.67	0.28	6.00	16
166	5.06	0.49	9.68	16	4.74	0.32	6.75	17
187	4.58	0.47	10.26	17	4.67	0.32	6.85	17
201	4.53	0.54	11.92	17	4.53	0.32	7.06	17
229	4.24	0.34	8.02	8	4.52	0.41	9.07	9
250	4.35	0.35	8.05	8	4.52	0.44	9.73	8
273	4.75	0.62	13.05	9	4.34	0.24	5.53	9

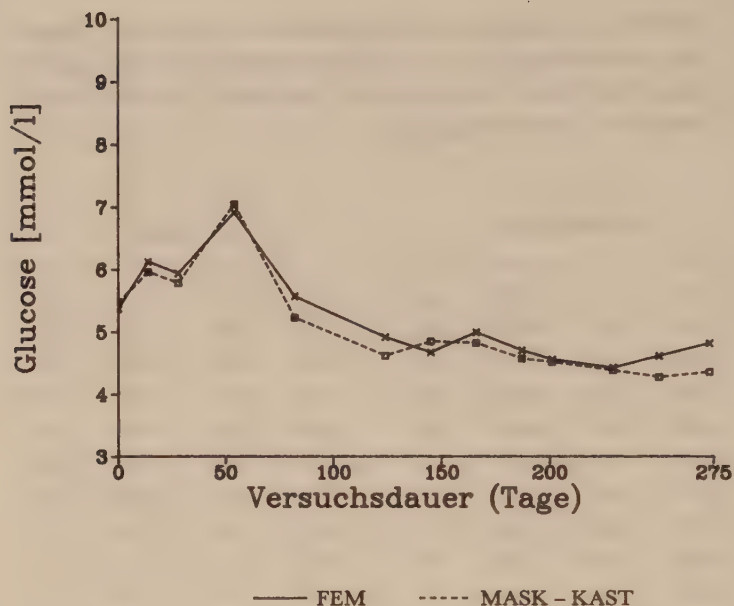


Abbildung 3: Mittelwertsverlauf des Plasmaparameters Glucose getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK - KAST: männlich kastriert)

Tabelle 6: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) des Plasmaparameters Glucose mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK – KAST: männlich kastriert)

VT	MASK – KAST				FEM			
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	5.47	0.71	12.98	24	5.37	0.95	17.69	24
14	5.96	0.67	11.24	24	6.13	1.35	22.02	23
28	5.78	1.05	18.17	24	5.94	1.09	18.35	24
54	7.05	1.15	16.31	24	6.91	1.33	19.25	24
82	5.22	0.65	12.45	22	5.57	0.96	17.24	24
124	4.61	0.27	5.86	24	4.91	0.40	8.15	23
145	4.84	0.58	11.98	18	4.67	0.34	7.28	15
166	4.81	0.49	10.19	17	4.98	0.36	7.23	16
187	4.56	0.35	7.68	18	4.70	0.45	9.58	16
201	4.51	0.38	8.43	18	4.55	0.51	11.21	16
229	4.37	0.48	10.98	9	4.41	0.28	6.35	8
250	4.27	0.35	8.20	8	4.60	0.39	8.48	8
273	4.34	0.47	10.83	10	4.80	0.44	9.17	8

3.1.2. Konzentrationsverlauf des Insulins

Von Versuchsbeginn bis zum elften Entnahmetermen zeichnet sich ein stetiger Anstieg des Insulinspiegels ab (siehe Abb.4). Während zum ersten Entnahmetermen der Insulinspiegel bei ca. 9 mU/l liegt, ist er am elften Entnahmetermen auf ca. 27 mU/l angestiegen. Das entspricht einer Erhöhung der Insulinkonzentration um das Dreifache. Danach deutet sich ein Abfall an, der sich am zwölften und dreizehnten Entnahmetermen in einem Insulinspiegel von ca. 18 mU/l zeigt. Die VK an den einzelnen Entnahmetermen schwanken zwischen 15% und 74% (siehe Tabelle 7). Zwischen den VK der Kontroll- und Versuchsgruppe besteht kein signifikanter Unterschied.

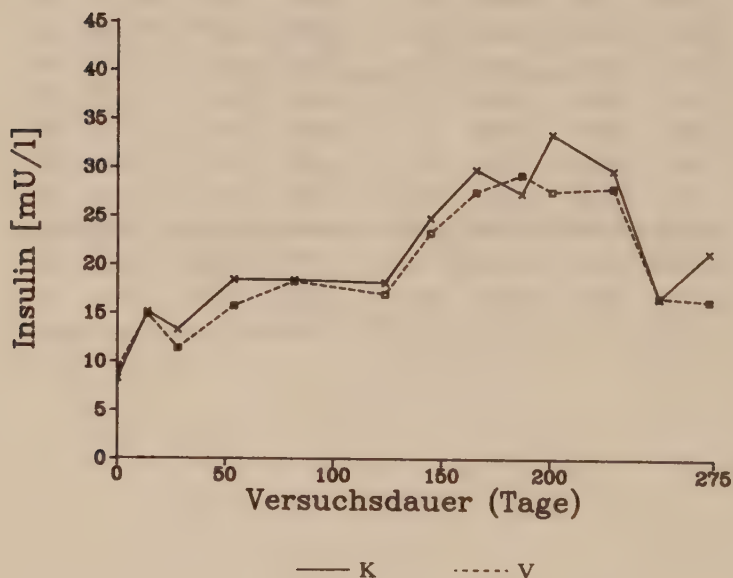


Abbildung 4: Mittelwertverlauf des Plasmaparameters Insulin getrennt nach Kontrollgruppe (K) und Versuchsgruppe (V)

Tabelle 7: Mittelwerte $\bar{x}$ (mU/l) des Plasmaparameters Insulin mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Kontroll- und Versuchsgruppe

Kontrollgruppe					Versuchsgruppe			
VT	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	8.2	2.97	37.13	24	9.1	3.90	43.33	24
14	15.1	5.38	35.87	23	14.9	6.24	41.60	24
28	13.3	3.89	29.92	23	11.3	2.92	26.55	23
54	18.4	13.24	73.56	24	15.7	9.94	62.13	24
82	18.4	2.90	16.11	23	18.2	3.08	17.11	23
124	18.1	4.07	22.61	24	16.9	3.22	18.94	23
145	24.8	6.83	27.32	16	23.2	3.82	16.61	17
166	29.7	9.04	30.13	16	27.4	6.59	24.41	17
187	27.3	5.62	20.81	16	29.2	6.24	21.52	17
201	33.4	10.59	32.09	17	27.5	4.18	15.48	16
229	29.6	9.78	32.60	9	27.8	7.54	26.93	9
250	16.5	5.59	34.94	8	16.6	6.61	38.88	8
273	21.2	6.71	31.95	8	16.2	4.83	30.19	9

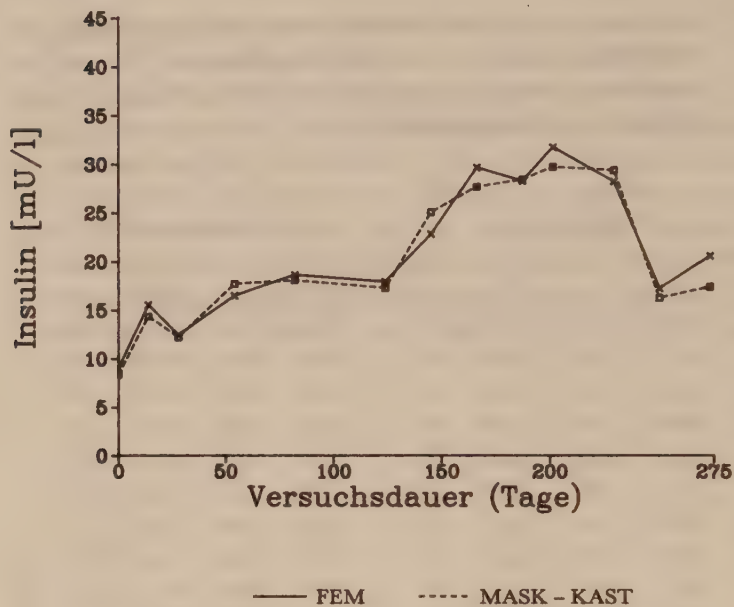


Abbildung 5: Mittelwertsverlauf des Plasmamparameters Insulin getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK - KAST: männlich kastriert)

Tabelle 8: Mittelwerte $\bar{x}$ (mU/l) des Plasmaparameters Insulin mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK – KAST: männlich kastriert)

FEM					MASK – KAST			
VT	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	9.0	3.33	37.00	24	8.3	3.62	45.25	24
14	15.5	6.61	41.31	24	14.4	4.83	34.50	23
28	12.4	3.42	28.50	24	12.1	3.74	31.17	22
54	16.4	13.59	84.94	24	17.7	9.61	53.39	24
82	18.6	3.36	17.68	23	18.1	2.55	14.17	23
124	17.8	3.34	18.56	23	17.2	4.04	23.76	24
145	22.7	3.62	15.74	15	25.0	6.54	26.16	18
166	29.5	9.65	32.17	16	27.6	5.78	20.64	17
187	28.2	6.80	24.29	15	28.3	5.30	18.93	18
201	31.6	11.02	34.44	15	29.6	5.98	19.93	18
229	28.1	8.74	31.21	8	29.2	8.78	30.28	10
250	17.1	5.55	31.21	7	16.1	6.48	40.50	9
273	20.4	6.32	31.60	7	17.2	6.01	35.35	10

3.1.3. Konzentrationsverlauf der FFS

Die Konzentrationsspiegel der FFS (siehe Abb.6) an den ersten drei Blutentnahmetermen liegen mit ca. 280 $\mu\text{mol/l}$ deutlich höher als die nachfolgenden. Zum vierten Blutentnahmetermin hin fällt die Konzentration der FFS auf ca. 170 $\mu\text{mol/l}$. Sie verändert sich dann bis zum Versuchsende nicht mehr wesentlich. Zwischen dem 28. und 250. Versuchstag fällt die Konzentration also um 50% ab. Die VK an den einzelnen Entnahmetermen bewegen sich zwischen 27% (124. Versuchstag, Versuchsgruppe) und 62% (201. Versuchstag, Kontrollgruppe). Die VK der Kontroll- und Versuchsgruppe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 9).

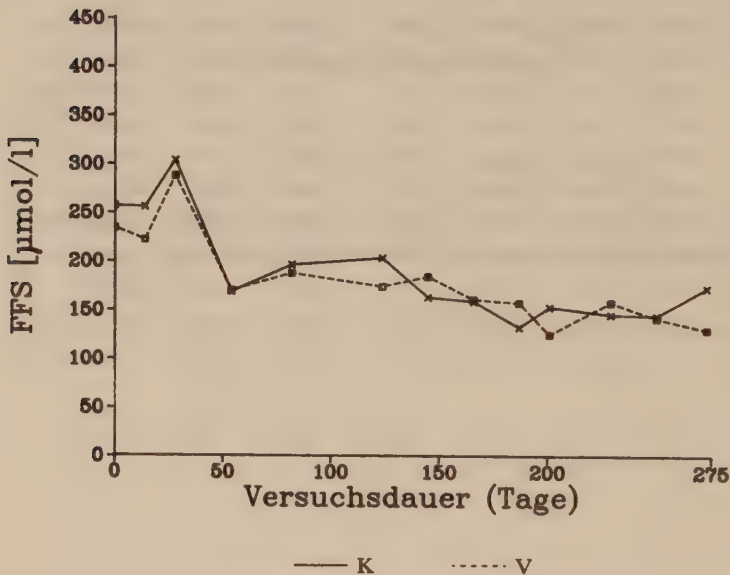


Abbildung 6: Mittelwertsverlauf des Plasmaparameters FFS getrennt nach Kontrollgruppe (K) und Versuchsgruppe (V)

Tabelle 9: Mittelwerte $\bar{x}$ ($\mu\text{mol/l}$) des Plasmaparameters FFS mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Kontroll- und Versuchsgruppe

Kontrollgruppe					Versuchsgruppe			
VT	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	257	130.45	50.76	23	234	122.95	52.54	24
14	256	134.93	52.71	23	222	95.35	42.95	24
28	304	119.16	39.20	24	288	133.82	46.47	24
54	168	59.68	35.52	24	170	52.80	31.06	24
82	196	66.61	33.98	24	187	70.46	37.68	24
124	203	78.95	38.89	24	174	46.16	26.53	23
145	162	64.14	39.59	17	184	73.70	40.05	17
166	158	57.24	36.23	17	160	54.43	34.02	16
187	132	46.65	35.34	16	157	77.18	49.16	16
201	153	94.82	61.97	16	124	48.86	39.40	16
229	145	63.29	43.65	9	157	73.00	46.50	9
250	144	73.18	50.82	9	141	66.31	47.03	8
273	172	74.66	43.41	9	129	51.23	39.71	9

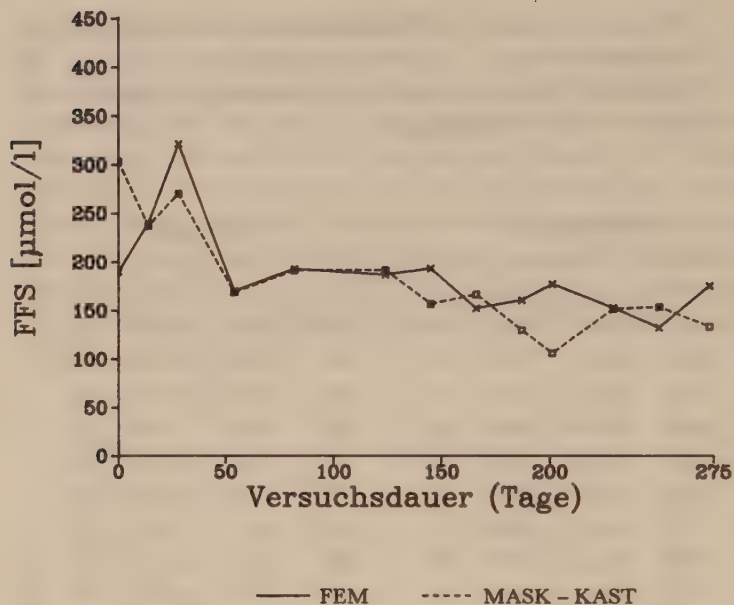


Abbildung 7: Mittelwertsverlauf des Plasmaparameters FFS getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK - KAST: männlich kastriert)

Tabelle 10: Mittelwerte $\bar{x}$ ($\mu\text{mol/l}$) des Plasmaparameters FFS mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK – KAST: männlich kastriert)

VT	FEM				MASK – KAST			
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
0	190	90.95	47.87	24	303	132.40	43.70	23
14	240	113.23	47.18	24	237	122.12	51.53	23
28	321	148.30	46.20	24	270	94.21	34.89	24
54	170	49.76	29.27	24	168	62.23	37.04	24
82	193	59.45	30.80	24	191	76.83	40.23	24
124	186	75.12	40.39	23	191	57.43	30.07	24
145	193	65.11	33.74	16	156	69.32	44.44	18
166	151	57.11	37.82	15	166	54.02	32.54	18
187	160	74.11	46.32	16	129	49.72	38.54	16
201	176	93.08	52.89	15	105	31.18	29.70	17
229	152	49.00	32.24	8	150	80.68	53.79	10
250	131	57.37	43.80	8	152	78.03	51.34	9
273	174	73.88	42.46	8	132	55.72	42.21	10

3.2. Beziehungen zwischen den Metabolitkonzentrationen von Glucose, Insulin und Freie Fettsäuren

Eine lineare Regressionsanalyse der Mittelwerte für Glucose und Insulin über den Versuchszeitraum erbringt keine signifikante Beziehung. Während die Glucosewerte ab dem 124. Versuchstag relativ konstant bleiben, steigen die Insulinspiegel zu diesem Zeitpunkt erst deutlich an.

Einen auffallenden Insulinverlauf zeigt ein Tier der Kontrollgruppe. Ab dem 145. Versuchstag liegen die Insulinwerte dieses Tieres deutlich höher als der Mittelwert der übrigen Tiere. An drei von sieben Entnahmeterminen steigen die Insulinkonzentrationen um mehr als vier Standardabweichungen über dem Mittelwert. Da dieses Tier nicht der Grundgesamtheit zugehörig erscheint, wurden die Insulinwerte ab dem 145. Versuchstag nicht für die statistische Auswertung verwendet. Die Glucosewerte dieses Tieres bewegen sich im normalen Streuungsbereich um den Mittelwert. Es scheint eine Insulinresistenz vorzuliegen.

Überprüft man die Mittelwerte der FFS - (x) und Insulinkonzentrationen (y) auf einen statistischen Zusammenhang, so entsteht ein uneinheitliches Bild. Da bei den FFS ein Geschlechtseinfluß besteht, wurden die Gruppen gesondert nach dem Geschlecht untersucht. Die weiblichen Tiere zeigen keine signifikante Beziehung, wogegen sich bei den männlich - kastrierten Tieren eine negative Wechselbeziehung ergibt. Erhöhte bzw. erniedrigte FFS - Spiegel stehen mit sinkender bzw. steigender Insulinkonzentration in einem Zusammenhang. Die männlich - kastrierten Tiere der Kontrollgruppe weisen einen Korrelationskoeffizienten r von $-0,784$ auf ($y = 38,328 - 0,087 x$). Das bedeutet eine hochsignifikante Beziehung mit einem p von $0,001$. Betrachtet man die Mittelwerte der FFS - und Glucosespiegel, so ist keine Korrelation zu erkennen.

3.3. Vergleich der HDL - CH Konzentrationen

Abbildung 8 zeigt einen Vergleich der HDL - CH Plasmaspiegel zwischen Kontroll - und Versuchsgruppe am 201. und 273. Versuchstag. Die HDL - CH Konzentration ist an beiden Versuchstagen fast unverändert. Sie beträgt ca. $1,9 \text{ mmol/l}$. Vergleicht man an den einzelnen Versuchstagen die HDL - CH Plasmaspiegel, so ergeben sich keine Unterschiede zwischen Kontroll - und Versuchsgruppe. Ebenso fällt der Vergleich zwischen den beiden Versuchstagen mittels einer Varianzanalyse aus.

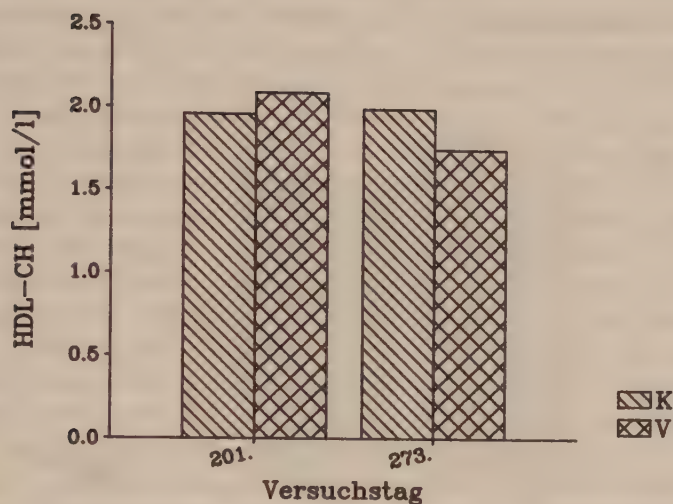


Abbildung 8: Vergleich der Mittelwerte des Plasmaparameters HDL - CH zwischen Kontrollgruppe (K) und Versuchsgruppe (V) am 201. und 273. Versuchstag

Tabelle 11: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) des Plasmaparameters HDL - CH mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Kontroll- und Versuchsgruppe

Kontrollgruppe					Versuchsgruppe			
VT	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
201	1.95	0.27	13.85	8	2.10	0.36	17.14	8
273	1.99	0.33	16.58	9	1.73	0.44	25.43	9

In Abbildung 9 sind die HDL-CH Konzentrationen der weiblichen und männlich-kastrierten Tiere an den beiden Versuchstagen dargestellt. Ein Geschlechtsunterschied ist nicht feststellbar.

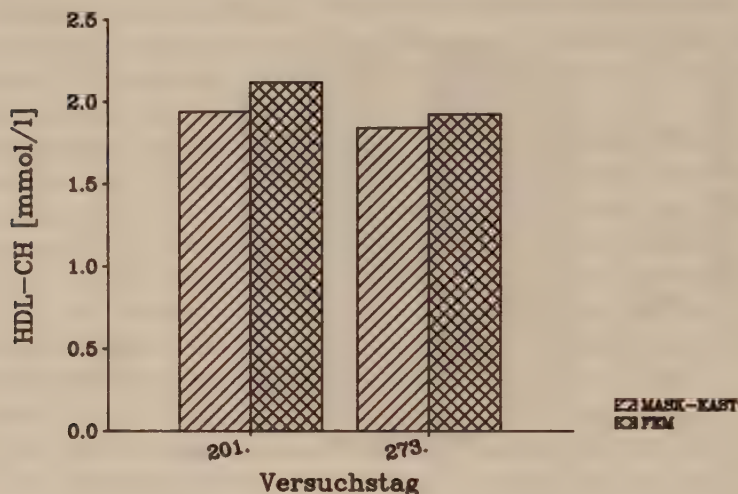


Abbildung 9: Vergleich der Mittelwerte des Plasmaparameters HDL-CH zwischen den weiblichen (FEM) und männlich kastrierten (MASK-KAST) Tieren am 201. und 273. Versuchstag

Tabelle 12: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) des Plasmaparameters HDL-CH mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK-KAST: männlich kastriert)

VT	FEM				MASK-KAST			
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
201	2.11	0.37	17.54	8	1.94	0.23	11.86	8
273	1.94	0.24	12.37	8	1.84	0.49	26.63	10

3.4. Vergleich der LDL – CH Konzentrationen

Die Abbildung 10 gibt einen Vergleich der LDL – CH Konzentrationen im Plasma zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe an den beiden Bestimmungsterminen wieder. Am 201. Versuchstag liegen die Kontrollgruppe bei $1,09 \pm 0,35$ mmol/l, die Versuchsgruppe bei $1,15 \pm 0,35$ mmol/l LDL – CH. Mit $0,98 \pm 0,25$ mmol/l der Kontrollgruppe und $0,88 \pm 0,22$ mmol/l der Versuchsgruppe fällt die LDL – CH Konzentration am 273. Versuchstag um $0,11$ mmol/l bzw. $0,27$ mmol/l. Weder an den einzelnen Versuchstagen noch zwischen den beiden Versuchstagen erbringt ein Vergleich der Kontroll- mit der Versuchsgruppe mittels einer Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied. Betrachtet man die LDL – CH Spiegel getrennt nach dem Geschlecht (siehe Abbildung 11), so scheint sich am 201. Versuchstag ein Unterschied anzudeuten. Die weiblichen Tiere besitzen mit $1,32 \pm 0,33$ mmol/l höhere LDL – CH Werte als die männlich – kastrierten mit $0,93 \pm 0,18$ mmol/l. Jedoch liegt bei den weiblichen Tieren auch der VK höher. Ein VK von 27,0% steht einem VK von 18,3% bei den männlich – kastrierten Tieren gegenüber. Am 273. Versuchstag weisen die weiblichen Tiere eine LDL – CH Konzentration von $0,95 \pm 0,24$ mmol/l, die männlich – kastrierten eine LDL – CH Konzentration von $0,92 \pm 0,20$ mmol/l auf. Für beide Versuchstage bringt eine Varianzanalyse keinen signifikanten Geschlechtsunterschied.

Dafür dürfte am 201. Versuchstag der hohe VK der weiblichen Tiere verantwortlich sein (siehe Tabelle 14).

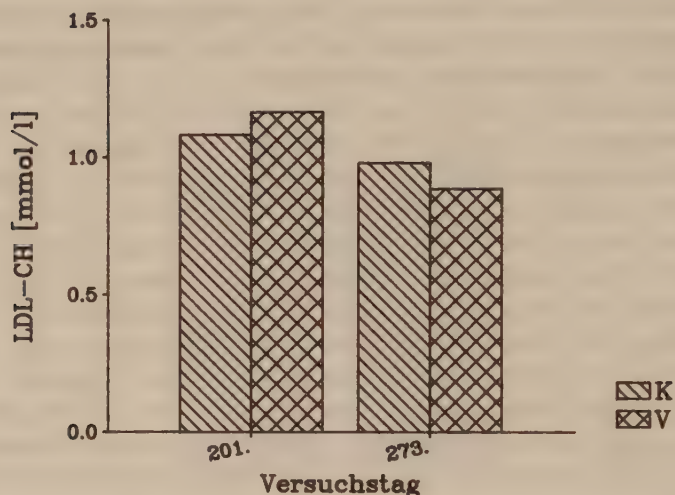


Abbildung 10: Vergleich der Mittelwerte des Plasmaparameters LDL - CH zwischen Kontrollgruppe (K) und Versuchsgruppe (V) am 201. und 273. Versuchstag

Tabelle 13: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) des Plasmaparameters LDL - CH mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Kontroll- und Versuchsgruppe

VT	Kontrollgruppe				Versuchsgruppe			
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
201	1.09	0.35	32.11	8	1.16	0.35	30.17	8
273	0.98	0.25	25.51	9	0.88	0.22	25.00	9

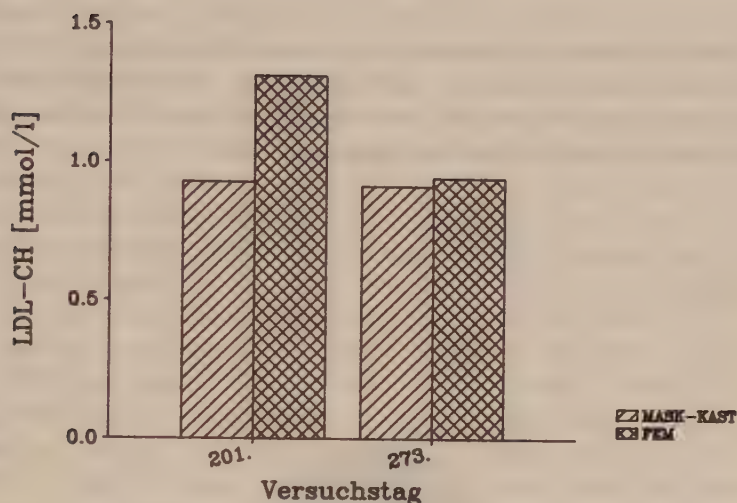


Abbildung 11: Vergleich der Mittelwerte des Plasmaparameters LDL-CH zwischen den weiblichen (FEM) und männlich kastrierten (MASK-KAST) Tieren am 201. und 273. Versuchstag

Tabelle 14: Mittelwerte $\bar{x}$ (mmol/l) Plasmaparameters LDL-CH mit Angabe der Standardabweichung s , des Variationskoeffizienten VK und der Anzahl der Tiere n am jeweiligen Versuchstag VT getrennt nach Geschlecht (FEM: weiblich, MASK-KAST: männlich kastriert)

VT	FEM				MASK-KAST			
	$\bar{x}$	s	VK	n	$\bar{x}$	s	VK	n
201	1.32	0.33	27.00	8	0.93	0.18	18.35	8
273	0.95	0.24	25.26	8	0.92	0.20	21.74	10

3.5. Vergleich der HDL - CH mit der LDL - CH Konzentration.

Abbildung 12 zeigt die Verteilung des CH auf die HDL - und LDL - Fraktion. Zieht man an beiden Versuchstagen einen Gesamtmittelwert aus den LDL - und HDL - CH Werten der Kontroll - und Versuchsgruppe so wird deutlich, daß ca. 62.1% des Gesamt - CH von HDL und nur ca. 32,7% von LDL getragen wird. Das restliche CH verteilt sich auf die übrigen Lipoproteine.

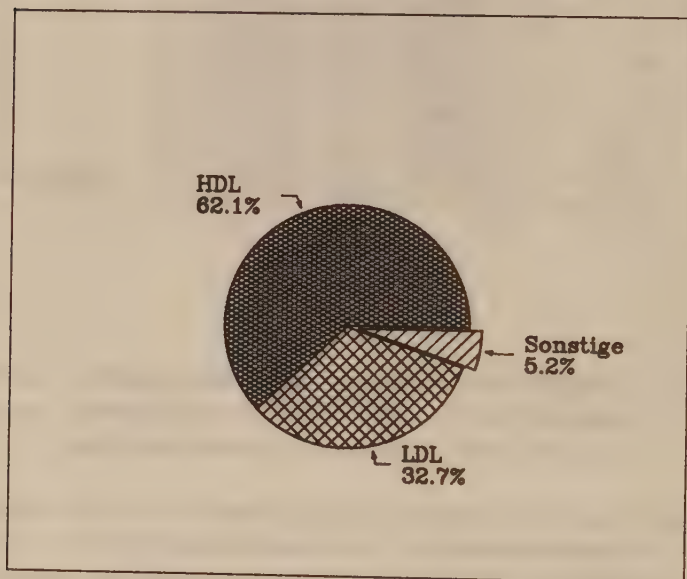


Abbildung 12: Prozentuale Verteilung des Gesamtcholesterins auf die HDL - und LDL - Fraktion

3.6. Erythrozytenfragilität – Vergleich behandelter und unbehandelter Tiere

In den Abbildungen 13 und 14 sind die Mittelwerte des prozentualen Hämolysegrades der Erythrozyten bei der jeweiligen NaCl-Konzentration dargestellt. Abbildung 13 bezieht sich auf den 201. Versuchstag, Abbildung 14 auf den 273. Versuchstag. Kontroll- und Versuchsgruppe sind getrennt aufgeführt. An beiden Versuchstagen ist ersichtlich, daß die 50% - Hämolyserate zwischen einer NaCl-Konzentration von 0,50 und 0,55% liegt. 100% - Hämolyse wird am 201. Versuchstag bei 0,35% NaCl-Konzentration, am 273. Versuchstag bei 0,40% NaCl-Konzentration erreicht. Beim Schwein wird als minimale osmotische Resistenz 0,52% NaCl, als maximale 0,29% NaCl-Lösung angegeben.

Die teilweise hohen Standardabweichungen deuten auf eine grosse individuelle Variabilität hin (siehe Tabelle 15 und 16). Der geringe individuelle Homogenitätsgrad der Erythrozytenfragilität beim Schwein ist bereits bekannt.

Vergleicht man die Mittelwerte des prozentualen Hämolysegrades nach dem t-Test, so ergibt sich kein Hinweis auf einen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe.

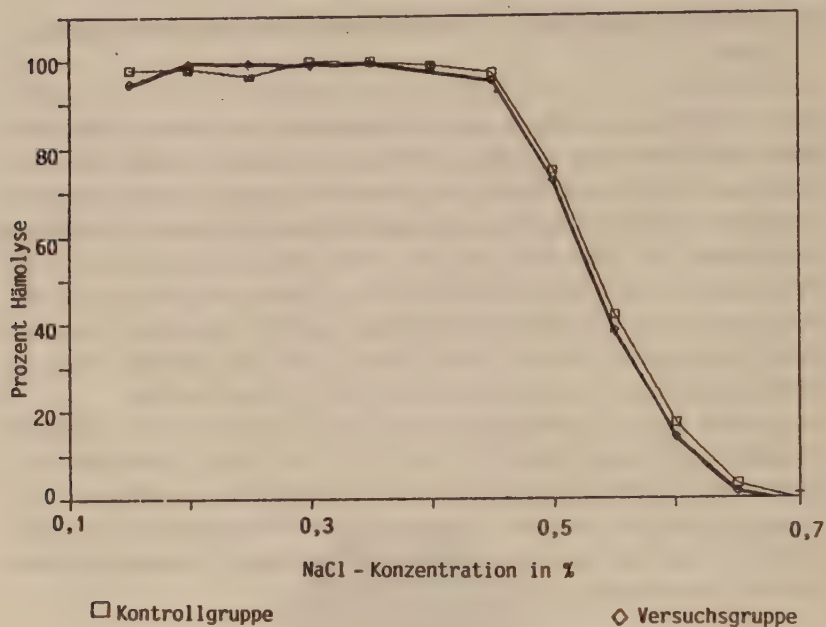


Abbildung 13: Osmotische Erythrozytenfragilität

Vergleich der Mittelwerte der prozentualen Hämolyse zwischen Kontrollgruppe K (n = 8) und Versuchsgruppe V (n = 8) am 201. Versuchstag

Tabelle 15: Mittelwerte $\bar{x}$ der prozentualen Hämolyserate mit Angabe der Standardabweichung s und des Variationskoeffizienten VK bei der jeweiligen NaCl-Konzentration c (%) am 201. Versuchstag getrennt nach Kontroll- ($n = 8$) und Versuchsgruppe ($n = 8$).

Kontrollgruppe				Versuchsgruppe		
c	$\bar{x}$	s	VK	$\bar{x}$	s	VK
0,15	97,86	7,43	7,60	94,54	1,17	1,23
0,20	98,07	12,05	12,28	99,40	1,29	1,30
0,25	96,41	15,75	16,34	99,19	1,09	1,10
0,30	99,75	7,61	7,63	98,92	1,96	2,00
0,35	99,61	7,14	7,16	99,26	1,79	1,81
0,40	98,73	7,34	7,43	96,94	2,52	2,60
0,45	96,99	6,21	6,40	95,19	2,16	2,26
0,50	74,93	10,83	14,44	72,50	10,73	14,80
0,55	41,93	12,80	30,52	38,37	11,01	28,70
0,60	17,16	8,69	50,62	14,11	6,95	49,27
0,65	3,19	3,10	97,18	1,49	1,75	117,48
0,70	*	*	*	*	*	*

* nicht bestimmt

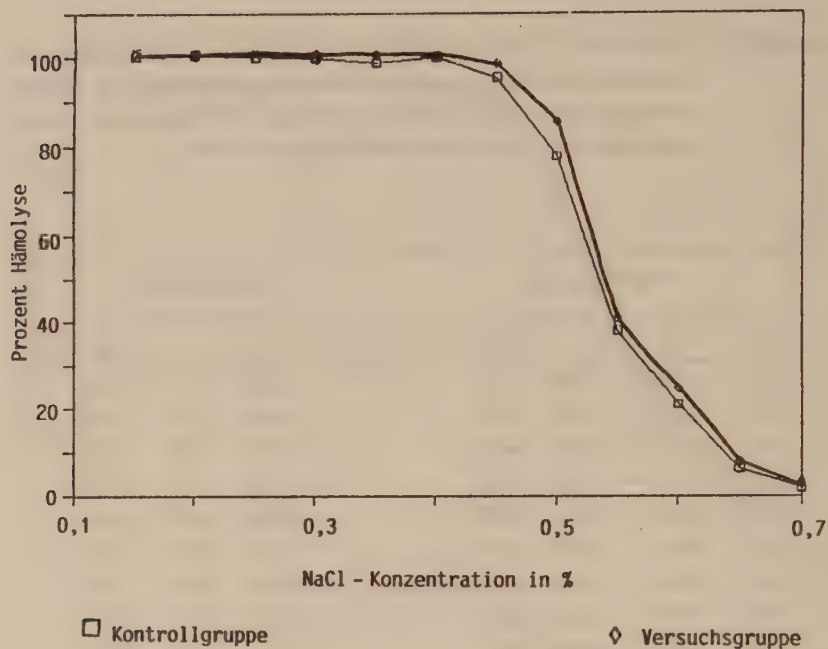


Abbildung 14: Osmotische Erythrozytenfragilität

Vergleich der Mittelwerte der prozentualen Hämolyse zwischen Kontrollgruppe K ($n = 9$) und Versuchsgruppe V ($n = 9$) am 273. Versuchstag

Tabelle 16: Mittelwerte $\bar{x}$ der prozentualen Hämolyserate mit Angabe der Standardabweichung s und des Variationskoeffizienten VK bei der jeweiligen NaCl-Konzentration c (%) am 273. Versuchstag getrennt nach Kontroll- ($n = 9$) und Versuchsgruppe ($n = 9$).

Kontrollgruppe				Versuchsgruppe		
c	$\bar{x}$	s	VK	$\bar{x}$	s	VK
0,15	100,28	1,84	1,83	100,75	2,10	2,08
0,20	100,49	1,90	1,89	100,71	1,85	1,84
0,25	100,09	2,78	2,78	101,12	2,33	2,30
0,30	99,89	1,82	1,82	100,69	2,87	2,85
0,35	98,74	3,19	3,23	100,59	2,39	2,38
0,40	100,05	1,65	1,64	100,55	2,19	2,18
0,45	95,45	3,91	4,10	98,57	3,36	3,40
0,50	77,87	9,20	11,82	85,52	7,62	8,90
0,55	38,06	11,41	29,98	40,90	13,31	32,54
0,60	20,89	7,37	35,25	24,48	11,65	47,58
0,65	6,20	1,97	31,83	7,53	4,72	62,67
0,70	1,84	0,66	35,98	2,38	1,27	53,36

4. DISKUSSION

4.1. Beurteilung der Wirkungen von Oxycholesterinen in vivo

Die Untersuchungen konnten die Wirkungen der Oxycholesterine, die in vitro beschrieben wurden, in vivo nicht bestätigen. Die Oxycholesterine 25-OH-CH, 3 β ,5 α ,6 β -Cholestantriol und 5,6-Epoxy-CH scheinen keinen Einfluß auf die untersuchten Parameter auszuüben.

Dabei stellt sich die Frage, ob diese Oxycholesterine ausreichend resorbiert wurden. Für das Schwein liegen keine Angaben über die Resorption von Oxycholesterinen vor. Am Totenkopffäffchen aber wurde eine Resorptionsrate von ca. 30 % für 25-OH-CH ermittelt. Die Oxycholesterine 3 β ,5 α ,6 β -Cholestantriol werden beim Kaninchen zu einem ähnlichen Prozentsatz wie das CH aufgenommen (PENG und TAYLOR, 1984). Die Art der Diät ist nach GRUNDY (1983) ein entscheidender Faktor für die Resorption. Bei einer Diät mit niederem Fettgehalt ist auch die Menge an Fettsäuren reduziert, die für die Micellenbildung der Oxycholesterine notwendig ist. Daher dürfte das für den vorliegenden Versuch zusammengestellte Futter mit ca. 41 Energieprozent Fettgehalt die Resorption der Oxycholesterine bedeutend erleichtern. Eine Resorptionsstörung der Oxycholesterine ist damit also unwahrscheinlich.

Vielmehr könnte eine Biotransformation der Oxycholesterine in der Leber dafür verantwortlich sein. Hinweise bringt KANDUTSCH (1980). Von der Leber wird 25-OH-CH schnell in polarere Produkte umgebaut. Es induziert bei peroraler Gabe die Synthese von Enzymen, die diese Reaktionen katalysieren. Auf diese Weise scheint es rasch in der Leber inaktiviert zu werden. Folglich sind Wirkungen auf die CH-Synthese und andere Zellfunktionen begrenzt. Ein ähnlicher Metabolismus könnte auch bei 3 β ,5 α ,6 β -Cholestantriol und 5,6 Epoxy-CH vorliegen. Diese These wird durch die pathohistologischen Ergebnisse gestützt. Ebenso erbrachten die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen keine Unterschiede zwischen cholesterinfrei und oxycholesteringefütterten Tieren (DAHME, 1988; LIEBICH, 1988).

4.2. Interpretation der Wirkung des Insulins auf den Fettstoffwechsel

Nach KUHFAHL (1986) wird der Insulinspiegel vom nutritiven Status des Organismus beeinflusst. Im Postresorptionszustand – etwa 3 bis 5 h nach Nahrungsaufnahme beginnend – ist gegenüber der Resorptionsphase die Plasmakonzentration des Insulins erniedrigt. Unsere Blutentnahmen erfolgten immer ca. 16 h nach der letzten Fütterung, lagen also in der Postresorptionsphase. Bei einem Vergleich mit anderen Insulinangaben sollte dieser Umstand berücksichtigt werden. Unter diesen Bedingungen stammen die FFS des Plasmas so gut wie ausschliesslich aus dem Fettgewebe (SCHLIERF, 1987). Da der FFS-Spiegel des Plasmas vor allem durch die Hormone Insulin und Glucagon geregelt wird, stellen die FFS einen Indikator für die Funktion des Insulins im Fettstoffwechsel dar. Bezeichnend dafür scheint die signifikante Beziehung zwischen den FFS und dem Insulin im Plasma. Diese Korrelation konnte allerdings nur bei den männlich-kastrierten Tieren nachgewiesen werden. Der Grund dürfte bei den weiblichen Tieren zu suchen sein. Bedingt durch die bei jedem weiblichen Individuum unterschiedliche Zykluslage, könnte es zu Konzentrationsänderungen der FFS im Plasma kommen, die eine Beziehung der beiden Parameter nicht mehr erkennen lassen. Daß ein Einfluß des Geschlechts auf die FFS bemerkbar ist, zeigt die Varianzanalyse. Zu Versuchsbeginn stehen hohe FFS-Werte niedrigen Insulinspiegeln gegenüber. Dieser Befund kann mit der Wirkung des Insulins auf die hormonsensitive Lipase der Adipozyten erklärt werden. Neben der hormonsensitiven Lipase ist auch die Lipoproteinlipase wesentlich für den FFS-Einstrom in den Intravasalraum verantwortlich. Sie spielt aber in der Postresorptionsphase eine zu vernachlässigende Rolle (BOLZANO, 1979).

Insulin bewirkt eine Abnahme der Aktivität der hormonsensitiven Lipase (JUNGERMANN und MÖHLER, 1984). So sind die zu Versuchsbeginn höheren FFS-Werte Ausdruck einer gesteigerten Lipolyse aufgrund einer vermehrten Aktivität der hormonsensitiven Lipase, die durch die relativ niedrigen Insulinspiegel bedingt ist. Bis zum 28. Versuchstag scheint die Wirkung des Insulins mit einer Mobilisierung von Fettreserven in Verbindung zu stehen. Mit steigenden Insulinwerten ab dem 28. Versuchstag dürfte sich eine Umkehrung der Stoffwechsellage im Sinne einer Lipogenese ankündigen, die auch am lebenden Tier in einer zunehmenden Verfettung sichtbar war.

Parallel mit dem steigenden Insulinspiegel fallen die FFS im Plasma. Die Ursache könnte in einer gesteigerten Triglyceridsynthese liegen. Der Anstieg der Insulin-

konzentration fördert den Glucoseeinstrom in den Adipozyten. Es kommt zur vermehrten Bereitstellung von Glycerol-1-Phosphat, das als Fettsäurenakkzeptor aus dem glycolytischen Abbau stammt. Die Veresterung der Fettsäuren mit dem Glycerol-1-Phosphat hat ein Absinken der FFS im Plasma zur Folge.

So wirkt Insulin vermutlich in zwei Ebenen auf den Fettstoffwechsel: Bei geringen Mengen hat es die Aufgabe, die Mobilisierung von Fettreserven zu fördern, während es bei hohen Konzentrationen im wesentlichen als energiespeicherndes Hormon wirkt. Diese Interpretation deckt sich mit den Erkenntnissen von HEARD (1978).

4.3. Die HDL - Fraktion - Träger des Hauptanteiles des Cholesterins

Bemerkenswert erscheint die Verteilung des Hauptanteils des CH auf die HDL - Fraktion. Vom Gesamt-CH (KRINNINGER, 1987) werden ca. 62,1 % von HDL und nur 32,7 % von LDL getragen. Gilt beim Schwein doch die LDL - Fraktion als der Hauptträger des CH. Bei Schweinen, die kommerzielles Mastfutter erhielten, geben BEYNEN et al. (1983) für die LDL 55,4% CH und für die HDL 42,0% CH an.

Die HDL - Fraktion scheint für den Transport des CH von peripheren Geweben zur Leber verantwortlich zu sein (ASSMANN, 1982). Somit könnte die Verlagerung des CH zu 62,1 % auf die HDL - Fraktion Ausdruck einer gesteigerten extrahepatischen CH - Synthese sein. Da die Tiere trotz des hohen Fettgehaltes der Diät cholesterinfrei gefüttert wurden, kann das CH nur aus der endogenen Synthese stammen. Für die enterale Fettresorption sind die Gallensäuren der Leber notwendig. So muß angenommen werden, daß das aus der Körperperipherie stammende CH in der Leber besonders in die Gallensäurensynthese eingeflossen ist. Das Fett in der Diät scheint von den Tieren maximal resorbiert worden zu sein. Dafür spricht die zunehmende Verfettung der Tiere im Verlauf des Versuches. Auch der trockene und konsistente Kot der Minipigs deutet auf eine Adaptation an die Fettdiät hin.

Die Verlagerung des CH auf die HDL - Fraktion scheint also in der Diät begründet. Auch GOLDSMITH et al. (1978) berichten bei Verabreichung von verschiedenen Fettdiäten an Nebraska - Minipigs von einem Anstieg der HDL - CH - Fraktion im Plasma.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In einem Fütterungsversuch über 273 Tage wurden in vitro beschriebene Wirkungen von Oxysterinen auf bestimmte Kohlenhydrat- und Fettstoffwechselparameter an 48 Miniaturschweinen untersucht.

Im Einzelnen wurden die Plasmakonzentrationen der Glucose, Freien Fettsäuren (FFS) und des Insulins in zwei- bis sechswöchigen Abständen bestimmt.

Am 201. und 273. Versuchstag wurden zusätzlich die HDL - CH und LDL - CH Konzentrationen im Plasma gemessen und ein osmotischer Erythrozytenfragilitätstest durchgeführt.

Je 24 Tiere bildeten die Kontroll- und Versuchsgruppe. Die Diät, die in ihrer energetischen Zusammensetzung der adulten Bundesbevölkerung entsprach, enthielt kein Cholesterin. Versuchs- und Kontrollgruppe bekamen das gleiche Futter. Dem Futter der Versuchsgruppe waren zusätzlich 0,03 % Oxysterine beigefügt. Es wurden die Oxysterine 25 - Hydroxy - Cholesterin (25 - OH - CH), 3 β 5 α 6 β - Cholestantriol und 5,6 - Epoxy - Cholesterin (5,6 - Epoxy - CH) verwendet.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bei keinem der untersuchten Parameter konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe festgestellt werden.
2. Bei den FFS des Plasmas deutet sich ein signifikanter Geschlechtseinfluß an ($p = 0,004$).
3. Die männlich - kastrierten Tiere zeigen eine signifikante reziproke Beziehung der FFS mit dem Insulin ($r = -0,784$; $y = 38,328 - 0,087x$).
4. Mit 62,1 % HDL - CH im Vergleich zu 32,7 % LDL - CH stellt die HDL - Fraktion den Hauptträger des Gesamt - CH dar.

Verschiedene Ursachen für die in vivo nicht signifikanten Wirkungen der Oxycholesterine werden diskutiert. Ein weiterer Diskussionsschwerpunkt liegt in der Interpretation der Insulinwirkung auf den Fettstoffwechsel. Die Verlagerung des Hauptanteiles des Cholesterins auf die HDL - Fraktion wird der cholesterinfreien Fettdiät zugeschrieben.

SUMMARY

Investigations about influence of oxidized derivatives of Cholesterol containing diet on certain parameters of carbohydrate and fat metabolism in miniature swine.

In a feeding experiment about 273 days in vitro described effects of oxidized cholesterols upon certain parameters of carbohydrate and fat metabolism were investigated in 48 miniature swine.

The plasma concentrations of glucose, non esterified acids (NEFA) and insulin were determined in intervals of two until six weeks.

Additionally the High - Density - Lipoproteins - Cholesterol (HDL - CH) and Low - Density - Lipoproteins - Cholesterol (LDL - CH) concentrations in plasma were measured in 201st and 273rd day of experiment. Simultaneously a osmotic fragility test of erythrocytes was made.

24 animals each were constituted in a control - and experimental group.

The diet, reflecting the average energetic nutritional composition in the food of the population of the Federal Republic of Germany, was free of cholesterol.

Control and experimental animals were provided with the same food.

The experimental group was additionally administered 0,03 % oxidized cholesterols.

As oxidized cholesterols were used 25 - Hydroxy - Cholesterol (25 - OH - CH), 3 β ,5 α ,6 β - Cholestantriol and 5,6 - Epoxy - Cholesterol (5,6 - Epoxy - CH).

The following conclusions can be drawn:

1. In none of the determined parameters a significant difference between control and experimental group could be found.
2. In NEFA of plasma seems to be a significant influence of sex ($p = 0,004$).
3. NEFA and insulin revealed a significant negative correlation in male castrated animals ($r = -0,784$; $y = 38,328 - 0,087$).
4. With 62,1 % HDL - CH compared to 32,7 % LDL - CH, the HDL - fraction contains the bulk of whole plasma cholesterol.

Explanations for the lack of significant effects of oxidized cholesterol in vivo are discussed.

Moreover reflections on the influence of insulin on fat metabolism were made.

The change in cholesterol distribution among HDL and LDL with the major part of plasma cholesterol finally accumulating in HDL instead of LDL was attributed to the fat diet free of cholesterol.

6. LITERATURVERZEICHNIS

ANITSCHKOW, N. (1913)

Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller
Cholesterinsteatose.

Beitr. Pathol. Anat. Allerg. Pathol. 56, 379 - 390

ASSMANN, G. (1982)

Lipidstoffwechsel und Atherosklerose.

Schattauer - Verlag, Stuttgart - New York

ASSMANN, G. & H. SCHRIEWER (1980)

Role of LDL and HDL in atherogenesis.

Nutr. Metab. 24 (Suppl.1) 1, 19 - 25

BARANOWSKI, A., C.W.M. ADAMS, O.B. BAYLISS HIGH &

D.B. BOWYER (1982)

Connective tissue responses to oxysterols.

Atherosclerosis 41, 255 - 266

BAUMGARTNER, H. R. (1977)

Zur Pathogenese der Atherosklerose - Beitrag aus zellbiologischer Sicht.

Schweiz. Med. Wschr. 107, 717 - 722

BICAN, P. (1984)

Unveröffentlichte Resultate.

B EGLINGER, R. & M. BECKER (1981)

Herz und Kreislauf. pp. 75 - 85

In: Glodek, P. & B. Oldigs (eds.): Das Göttinger Miniaturschwein.

Paul - Parey Verlag, Berlin - Hamburg

BEUTLER, E. (1977)

Osmotic fragility. pp. 1609 - 1610

In: Williams W.J., E. Beutler, A.J. Erslev & R.W. Rundles (eds.):

Hematology; Mc Graw - Hill, New York

BISCHOFF, F. (1969)

Carcinogenic effects of steroids.

Adv. Lipid. Res. 7, 165 - 244

BEYNEN, A.C., J.A. SCHOUTEN, A.H.M. TERPSTRA & J. VISSER (1983)

Density profile and cholesterol concentration of serumlipoproteins
in pigs fed a hypercholesterolemic diet.

Z. Versuchstierk. 25, 333 - 337

BLACK, H.S. & J.T. CHAN (1976)

Etiologic related studies for ultraviolet light - mediated carcinogenesis.

Oncology 33, 119 - 122

BOLLWAHN, W., B. VOLLMERHAUS, K. HEINRITZI & H. ROOS (1982)

Erneut - zur Blutentnahme aus der Jugularvene beim größeren Schwein.

Der Praktische Tierarzt 63/12, 1037 - 1041

BOLZANO, K. (1979)

Die Bedeutung der Lipoproteinlipase und der hepatischen Triglyceridlipase
beim Abbau triglyceridreicher Lipoproteine.

Wien. klin. Wochenschr. 91, Supplementum 101, 3 - 20

BROWN M.S. & J.L. GOLDSTEIN (1974)

Suppression of 3 - HMG - CoA - Reductase activity and inhibition of growth of
human fibroblasts by 7 - Ketocholesterol.

J. hist. Chem. 249, 7306 - 7314

BROWN, M.S., S.E. DANA & J.L. GOLDSTEIN (1975)

Cholesterolester formation in cultures human fibroblasts stimulated by
oxygenated sterols.

J. biol. Chem. 250, 4025 - 4027

CHAPMAN, D. (1975)

Phase transitions and fluidity characteristics of lipids and cell membranes.

Quart. Rev. Biophys. 8, 185 - 235

CHAN, J.T. & J.C. CHAN (1980)

Effects of lipid soluble antioxidants on cytotoxicity induced by photochemical products of cholesterol.

Photobiochem. Photobiophys. 1, 113 - 116

CHEN, H.W. & A.A. KANDUTSCH (1976)

Effects of Cholesterol derivatives on sterol biosynthesis. pp. 405 - 418

In: Day, H. (ed.): Advances in experimental medicine and biology, vol. 67

Plenum Press, New York

CHEN, H.W., A.A. KANDUTSCH & C. WAYMOUTH (1974)

Inhibition of cell growth by oxygenated derivatives of Cholesterol.

Nature Lond. 251, 419 - 421

CONSTANTINIDES, P. (1965)

Experimental atherosclerosis in the rabbit. pp. 276 - 290

In: Roberts J.C. & R. Strauss (eds.): Comparative atherosclerosis.

Harper, New York

COOPER, R.A., E.C. ARNER, J.S. WILEY & S.R. SHATTIL (1975)

Modification of red cell membrane structure by Cholesterol - rich lipid dispersions.

J. Clin. Invest. 55, 115 - 126

COOPER, G.R. (1982)

Collection of Blood Samples for Lipoprotein Analysis.

Clin. Chem. 28/6, 1375 - 1378

CORNELL, R., G.L. GROVE, R.H. ROTHBLAT & A.F. HORWITZ (1977)

Lipid requirement for cell cycling. The effects of selective inhibition of lipid synthesis.

Expl. Cell. Res. 109, 299 - 307

DAHME, E. (1988)

Persönliche Mitteilungen.

DAUBEN, W.G. & P.H. PAYOT, (1956)

Radiation - induced oxidation of cholesterol. I. Chemical observation.
J. Am. Chem. Soc. 78, 5657 - 5660

DAVIS, M.A.F., R. HENRY, & L.B. LESLIE (1974)

Comparative studies on porcine and human high density lipoproteins.
Comp. Biochem. Physiol. 47 B, 831 - 849

DEMEL, R.A. & B. DE KRUYFF (1976)

The function of sterols in membranes.
Biochem. Biophys. Acta 457, 109 - 132

DEMBINSKA - KIEC, A., W. RÜCKER & P.S. SCHÖNHOFER (1979)

Prostaglandin dependant differences in TX A2 formation by platelets
from normal and atherosclerotic rabbits.
Atherosclerosis 33(2), 217 - 226

DUPONT, J., S. OH, L. O'DEEN, M. Mc CLELLAN, W. LUMB,
A. BUTTERFIELD & D. CLOW (1974)

Cholesterol on Bile Acid Turnover in Miniature Swine.
Lipids, 9, 9, 717 - 721

ELLENDORFF, F. F. ELSÄSSER & N. PARVIZI (1981)

Experimentaltechniken, Chir. Eingr. pp. 86 - 91
In: P. Glodek u. B. Oldigs
Das Göttinger Miniaturschwein.
Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg

EPSTEIN, F.H. (1978)

Estimating the effectiveness of preventive measures to reduce coronary heart
desease risk. pp. 351 - 360
In: Carlson, L.A. et al. (eds.): International conference on Atherosclerosis.
Raven Press, New York

ERNÄHRUNGSBERICHT (1984)

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V. (ed.), Frankfurt/Main

FIESER, L.F. (1953)

Cholesterol and companions.

III. Cholestanol, Lathosterol and Ketone.

J. Am. Chem. Soc. 75, 4395 - 4403

FIESER, L.F. (1953)

Cholesterol and companions.

IV. Steroid dibromides.

J. Am. Chem. Soc. 75, 5421 - 5422

FISCHER, K.H., G. LASKAWY & W. GROSCH (1985)

Quantitative Analyse von Autoxidationsprodukten des Cholesterols
in tierischen Lebensmitteln.

Z. Lebensm. Unters. Forsch. 181, 14 - 19

FRIEDRICH, G. (1968)

Schweine als Versuchstiere in der humanmedizinischen Forschung.

Dtsch. Gesundh. - Wesen 23, 1143 - 1148

FRENCH, J.E., M.A. JENNINGS & J.H.W. FLOREY (1965)

Morphological studies on atherosclerosis in swine.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 127, 780 - 799

GUEST, G.M. & M. WING (1942)

Osmometric behavior of normal human erythrocytes.

J. Clin. Invest. 21, 257 - 262

GRESHAM, G.A. & A.N. HOWARD (1965)

Comparative atherosclerosis. pp. 62 - 65

In: Roberts, J.C. & R. Straus (eds.): Comparative atherosclerosis.

Harper, New York

GRUNDY, S.M. (1983)

Absorption and metabolism of dietary cholesterol.

Ann. Rev. 3, 71 - 96

GURR, M.J., J. KIRTLAND & M. PHILIP (1977)

The consequences of early overnutrition for fat cell size and number: the pig as an experimental model for human obesity.

Inter. J. Obesity 1, 151 - 170

GYORKEY, F., J.L. MELNICK, G.A. GUINN, P. GYORKEY & M.E. DE BAKEY (1984)

Herpesviridae in the endothelial and smooth muscle cells of the proximal aorta in arteriosclerotic patients.

Exp. and molec. Pathol. 40, 328 - 339

HASLEWOOD, G.A.D. (1939)

Metabolism of steroids; isolation of 7 - Hydroxy - Cholesterol and of "hepatols" from ox liver.

Biochem. J. 33, 709 - 712

HASLEWOOD, G.A.D. (1941)

Metabolism of steroids: isolation of cholestane - 3:5:6 - triol and other substances from ox liver extracts.

Biochem. J. 35, 708 - 711

HAUST, M.D. & R.H. MORE (1965)

Experimental atherosclerosis in rabbits. pp. 255 - 275

In: Roberts, J.C. & R. Straus (eds.): Comparative atherosclerosis.

Harper, New York

HEARD, C.R.C. (1978)

The effects of protein - energy malnutrition on blood glucose homeostasis.

Wld. Rev. Nutr. Diet. 30, 107 - 147

HERIAN, A.M., N.M. KÜHL & K. LEE (1985)

Growth inhibition of *Mycoplasma gallisepticum* following membrane insertion of cholesterol autoxidation products.

J. Food Prot., Vol. 48, 12, 1050 - 1053

HERRMANN, W. & J. MASSMANN (1976)

Ursachen und Bedeutung der gesteigerten Endothelpermeabilität für die Entstehung der Arteriosklerose.

Z. ges. inn. Med. 31, 721 - 727

HIGHLEY, N.A. & S.L. TAYLOR (1984)

The steatotic and cytotoxic effects of cholesterol oxides in cultured L - cells.

Food Chem. Toxicol. 22, 983 - 989

HILL, J.C., S.K. PENG, R.J. MORIN & C.B. TAYLOR (1984)

Effects of cholesterol autoxidation derivatives on hexose transport in cultured aortic smooth muscle cells.

Exp. Mol. Path. 41, 249 - 257

HOUP, K.A., T.R. HOUP & W.G. POND (1979)

The pig as a model for the study of obesity and of control of food intake: a review.

The Yale J. Biol. Med. 52, 307 - 329

JUNGERMANN, K. & H. MÖHLER (1984)

Biochemie.

Springer - Verlag, Berlin - Heidelberg - New York

IMAI, Y., S. KIKUCHI, T. MATSUO, Z. SUZUOKI &

K. NISHIKAWA (1967)

Biological studies of $3\beta,5\alpha,6\beta$ -Cholestantriol and its derivatives.

2. Effect of Cholestantriol on the absorption, synthesis, excretion and tissue distribution of cholesterol in rats.

J. Atheroscler. Res. 7, 671 - 686

IMAI, H., N.T. WERTHESEN, P. THAM & K.T. LEE (1976)

Spontaneously occurring angiotoxic derivatives of cholesterol.

Archs Pathol. Lab. Med. 100, 565 - 572

IMAI, H., N.T. WERTHESEN, V. SUBRAMANYAM, P.W. LE QUESNE,
A.H. SOLOWAY & M. KANISAWA (1980)

Angiototoxicity of oxygenated sterols and possible precursors.

Science, Vol. 207, 8, 651 - 653

IZZO, C., F. GRILLO & E. MURADOR (1981)

Improved method for determination of high - density - lipoprotein cholesterol.

I. Isolation of high - density - lipoproteins by use of polyethyleneglycol 6000.

Clin. Chem. 27, 371 - 374

KADZIOLKA, A. & W. GASIOR (1983)

Coronary arterial disease and atheromatosis in breeding sows.

Acta Physiol. Pol. 34, (1), 29 - 40

KALICH, J., K. KRUMBACHER & B. RUF (1968)

Über die Erfahrungen bei Zucht und Haltung sowie einige physiologische
Daten des Hanford - Miniaturschweines.

Z. ges. exp. Med. 145, 27 - 33

KANDUTSCH, A.A. & H.W. CHEN (1977)

Consequences of blocked sterol synthesis in cultered cells. DNA synthesis
and membrane composition.

J. biol. Chem. 252, 409 - 415

KANDUTSCH, A.A., H.J. HEINIGER & H.W. CHEN (1977)

Effects of 25 - Hydroxycholesterol and 7 - Ketocholesterol, inhibitors of sterol
synthesis, administered orally to mice.

Biochem. Biophys. Acta 486, 260 - 272

KANDUTSCH, A.A., H.W. CHEN & H.J. HEINIGER (1978)

Biological activity of some oxygenated sterols.

Science 201, 498 - 501

KANNEL, W.B., W.P. CASTELLI & T. GORDON (1979)

Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New prespective based on Framingham study.

Ann. Intern. Med. 90, 85 - 91

KAPLAN, M.M. (1961)

Comparative medical studies of chronic degenerative diseases as a veterinary public health activity.

J. S. Afr. Vet. Med. Assoc. 32, 33 - 39

KATAN, M.B. & A.C. BEYNEN (1983)

Hyper - response to dietary cholesterol in man.

Lancet, 1213

KHAN, M.A., J.M. HSU, F.L. EARL & F.P. HEALD (1982)

Aortic fatty streaking and alterations of serum cholesterol, aminoacids, and copper in miniature pigs fed atherogenic diet.

Monogr. Am. Coll. Nutr., 5, 111 - 119

KNÖTGEN, V., W. PETEK & G. KOSTNER (1976)

Alteration of serum lipid values and lipoproteins by bacteria as a possible cause of artifacts in the screening of dyslipoproteinemias.

Klin. Wochenschr. 54, 643 - 645

KRINNINGER, E. (1987)

Persönliche Mitteilungen.

KRUTH, H.S. (1985)

Platelet - mediated cholesterol accumulation in cultured aortic smooth muscle cells.

Science 227, 1243 - 1245

KUHFAHL, E. (1986)

Der Stoffwechsel der freien Fettsäuren im Intravasalraum.

Zeitschr. ges. Inn. Med. 41, 15, 409 - 413

KUMMEROW, F.A. (1980)

Possible role of oxidized lipids in atherosclerosis. pp. 599 - 611

In: Simic, M.G. & M. Karel (eds.): Autoxidation in food and biological systems.

Plenum Press, New York - London

LIEBICH, H.G. (1988)

Persönliche Mitteilungen.

LOFLAND, H. & T.B. CLARKSON (1959)

A biochemical study of spontaneous atherosclerosis in pigeons.

Circ. Res. 7, 234 - 248

LUGINBÜHL, H., G.L. ROSSI, H.L. RATCLIFFE & R. MÜLLER (1965)

Comparative atherosclerosis. pp. 421 - 448

In: Roberts, J.C. & R. Straus (eds.): Comparative Atherosclerosis.

Harper, New York

MAGEE, D.F. & S.S. HONG (1966)

Studies on pancreatic physiology in pigs. pp. 109 - 121

In: Bustad, L.K. & R.O. MC CLELLAN (eds.): Swine in biomedical research.

Frayn Printing Co., Seattle USA

MATSUBARA, C., Y. NISHIKAWA, Y. YOSHIDA & K. TAKAMURA (1983)

A spectrophotometric method for the determination of Free Fatty Acids in serum using Acyl - CoA - Synthetase and Acyl - CoA - Oxidase.

Anal. Biochem. 130, 128 - 133

MC GILL, H.C., J.P. STRONG, R.L. HOLMAN & N.T. WERTHESEN (1960)

Arterial lesions in the Kenya baboon.

Circ. Res. 8, 670 - 683

MILL, I.T., M.F. MEHLER & A.M. ADAMANY (1980)

Effect of 25 - Hydroxy - Cholesterol on disposition and turnover of membrane components in cultured aortic smooth muscle cells.

Fed. Proc. 39, 3009 - 3118

MULDER, C. (1983)

Determination of Free Fatty Acids: A comparative study of the enzymatic versus the gas chromatographie and the colorimetric method.

J. Clin. Chem. Clin. Biochem., Vol. 21, 823 - 827

NABER, E.C. & M.D. BIGGERT (1982)

Cholesterol oxidation products in fresh and heat - treated egg yolk lipid.

Fed. Proc. 33, 581 - 589

NELSON, J.S., M.R. CZARNY, T.A. SPENCER, J.S. LINANEK, K.R. MC CRAE & T.Y. CHANG (1978)

A novel inhibitor of steroid biosynthesis.

J. Am. Chem. Soc. 100, 4900 - 4962

NEUNDORF, R. & H. SEIDEL (1987)

Schweinekrankheiten.

2. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

NIE, N.H., C.H. HULL, J.G. JENKINS, K. STEINBRENNER & D.H. BENT (1975)

SPSS - Statistical package for the social science.

Mc Graw - Hill Book Company

NISHIDA, J. & F.A. KUMMEROW (1960)

Interaction of serum lipoproteins with hydroperoxide of methylloleate.

J. Lipid. Res. 1, 450 - 458

PENG, S.K., C.B. TAYLOR & P. THAM (1978)

Effects of autoxidation products from cholesterol on aortic smooth muscle cells. An in vitro study.

Archs. Pathol. Lab. Med. 102, 57 - 61

PENG, S.K., P. THAM, C.B. TAYLOR & B. MIKKELSON (1979)

Cytotoxicity of cholesterol oxidation derivatives on cultured aortic smooth muscle cells and their effect on cholesterol biosynthesis.

Am. J. Clin. Nutr. 32, 1033 - 1042

PENG, S.K., C.B. TAYLOR, J. SAFARIK, J. HILL &

B. MIKKELSON (1982)

Arteriosclerosis induced by 25 - Hydroxycholesterol in squirrel monkeys.

Fed. Proc. 41, 452 - 460

PENG, S.K., C.B. TAYLOR, E.H. MOSBACH, W.Y. HUANG, J. HILL & B. MIKKELSON (1982)

Distribution of 25 - Hydroxycholesterol in plasmalipoproteins and its role in atherogenesis - A study in squirrel monkeys.

Atherosclerosis 41, 395 - 402

PENG, S.K. & C.B. TAYLOR (1983)

Atherogenic effect of oxidized cholesterol. pp. 919 - 933

In: Perkins, E.G. & W.J. Visek (eds.): Dietary fats and health.

American Oil Chemists Society, Champaign

PENG, S.K. & C.B. TAYLOR (1984)

Cholesterol autooxidation, health and arteriosclerosis.

Wld. Rev. Nutr. Diet., Vol. 44, 117 - 154

PENG, S.K., R.J. MORIN, P. THAM & C.B. TAYLOR (1985)

Effects of oxygenated derivatives of cholesterol on cholesterol uptake by cultured aortic smooth muscle cells.

Artery 13 (3), 144 - 164

PENG, S.K., C.B. TAYLOR, J.C. HILL & R.J. MORIN (1985)

Cholesteroloxidation derivatives and arterial endothelial damage.

Arteriosclerosis 54, 121 - 133

- PENG, S.K., J.C. HILL, R.J. MORIN & C.B. TAYLOR (1985)
Influence of cholesterol oxidation derivatives on membrane bound enzymes
in cultured aortic smooth muscle cells.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 180, 126 - 132
- PERK, K., Y.F. FREI & A. HERZ (1964)
Osmotic fragility of red blood cells of young and mature domestic and
laboratory animals.
Am. J. Vet. Res. 25, 107, 1241 - 1248
- PERTSEMLIDIS, D., E.H. KIRCHMAN & E.H. AHRENS (1973)
Regulation of cholesterol metabolism in the dog.
J. Clin. Invest. 52, 2353 - 2365
- RATCLIFFE, J.L. & J. LUGINBÜHL (1971)
The domestic pig: A model for experimental atherosclerosis.
Atherosclerosis 13, 133 - 136
- ROSS, R. & J.A. GLOMSET (1976)
The pathogenesis of atherosclerosis.
New Engl. J. Med. 295, 369 - 377
- ROSS, R. (1986)
The pathogenesis of atherosclerosis - an update.
New Engl. J. Med. 314, 488 - 500
- ROBERTS, J.C. & R. STRAUS (1965)
Comparative atherosclerosis. pp. 365 - 379
In: Roberts, J.C. & R. Straus (eds.): Comparative atherosclerosis.
Harper, New York
- SACHS, L. (1984)
Angewandte Statistik.
6. Auflage, Springer - Verlag, Berlin

SCHLIERF, G. (1987)

Fettstoffwechsel. pp. 162 - 188

In: Siegenthaler W. (ed.): Klinische Pathophysiologie.

6. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart

SCHOUTEN, J.A., A.C. BEYNEN, H.F.W. HOITSMA, C. MULDER,
L.M. HAVEKES & C.M. VAN GENT (1985)

Serum lipoproteins in cholesterol fed pigs after partial ileal bypass.

Laboratory Anim. 19, 98 - 105

SCHRÖPFER, G.J., B.C. SHERRIL, K.S. WANG, W.K. WILSON, A.KISIC &
T.B. CLARKSON (1984)

5a - Cholest - 8,14 - en - 3b - ol - 15 - one lowers serum cholesterol and induces profound changes in the level of lipoprotein cholesterol and apoproteins in monkeys fed a diet of moderate cholesterol content.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6861 - 6865

SCHUBÖ, W. & H.M. UEHLINGER (1984)

SPSS - X - Handbuch der Programmversion 2.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

SCHUH, J., FAIRCLOTH, G.F. & R.H. HASCHEMEYER (1978)

Oxygen mediated heterogeneity of apo - low density lipoprotein.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 3173 - 3177

SCHULZE, E. & E. WINTERSTEIN (1904)

Über das Verhalten des Cholesterins gegen das Licht.

Physiol. Chem. 43, 316 - 319

SEVANIAN, A. & A.R. PETERSON (1984)

Cholesterol epoxide is a direct - acting mutagen.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 4198 - 4202

SIEBER, R. (1986)

Oxidiertes Nahrungscholesterin - eine Primärursache der Arteriosklerose?

Ernährung/Nutrition 10, 8, 547 - 556

SINGER S.J. & G.L. NICOLSON (1972)

The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.
Science 175, 720 - 731

SMITH, L.L. (1981)

Cholesterolautoxidation.
Plenum Press, New York - London

SMITH, L.L. (1980)

The autoxidation of Cholesterol. pp. 119 - 132
In: Simic, M.G. & M. KAREL (eds.): Autoxidation in food and biological systems.
Plenum Press, New York - London

STREULI, R.A. (1983)

Die pathophysiologische Bedeutung oxidierter Sterole.
Verlag Hans Huber, Bern - Stuttgart - Wien

STATISTISCHES JAHRBUCH (1980)

Stat. Bundesamt (ed.): Fachserie 12 (Gesundheitswesen),
Reihe 4 (Todesursachen)
Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart, Mainz

TAYLOR, C.B., S.K. PENG, N.T. WERTHESEN,

P. THAM & K.T. LEE (1979)

Spontaneously occurring angiotoxic derivatives of cholesterol.
Am. J. Clin. Nutr. 32, 40 - 57

TERPSTRA, A.H.M., F.J. SANCHEZ - MUNIZ,

C.E. WEST & C.J.H. WOODWARD (1982)

The density profile and cholesterol concentration of serum lipoproteins
in domestic and laboratory animals.
Comp. Biochem. Physiol. 71B, 669 - 763

TURLEY, S.D. & J.M. DIETSCHY (1982)

Cholesterol metabolism and excretion by the liver. pp. 467 - 492

In: Arias, J., H. Popper, D. Schachter & D.A. Shafritz (eds.):

The liver: Biology and Pathobiology.

Raven, New York

VAN LIER, J.E. & L.L. SMITH (1970)

Sterolmetabolism. XI. Thermal decomposition of some cholesterol - hydroperoxides.

Steroids 15, 485 - 503

VAJDI, M., W.W. NAWAR & C. MERITTI (1979)

Identification of radiolatic compounds from beef.

J. Am. Oil. Chem. Soc. 56, 611 - 615

VOLLMERHAUS, B., W. BOLLWAHN, H. ROOS,

K. HEINRITZI & H. WAIBL (1982)

Vereinfachte Methode zur Blutentnahme beim Ferkel.

Der Prakt. Tierarzt 63/6, 538 - 541

WARNICK, G.R., C. MAYFIELD & J.J. ALBERS (1981)

Evaluation of quality - control materials for high - density - lipoprotein cholesterol quantification.

Clin. Chem. 27, 116 - 123

WARNICK, G.R., T. NGUYEN & A.A. ALBERS (1985)

Comparision of improved precipitation methodes for quantification of high - density - lipoprotein - cholesterol.

Clin. Chem. 31/2, 217 - 222

WATERS, L.L. (1965)

Levels of injected serum lipids associated with lipophagic corneal reactions. pp. 196 - 207

In: Roberts, J.C. & R. Straus (eds.): Comparative Atherosclerosis

Harper, New York

WILSON, J.D. (1964)

The quantification of cholesterol excretion and degradation in the isotopic state in the rat: The influence of dietary cholesterol.

J. Lipid. Res. 5, 409 - 417

WILLIAMS, L.D. & A.M. PEARSON (1965)

Unsaponifiable fraction of pork fat as related to boar odor.

J. Agric. Fd. Chem. 13, 1573 - 1580

WORLD HEALTH ORGANISATION (1958)

Tech. Rep. Ser. 143, 4

YACHNIN, S., R.A. STREULI, L.I. GORDON & R.C. HSU (1979)

Alteration of peripheral blood cell membrane function and morphology by oxygenated sterols.

Curr. Top. Hematol. 2, 245 - 271

YAGI, K. (1984)

Age dependant changes on lipid peroxid levels in the lipoprotein fractions of human serum.

Bio Essays 1, 58 - 62

DANKSAGUNG

Besonders danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. D. Giesecke für die Überlassung des Themas und für seine stets gewährte Hilfe.

Ein herzliches Dankeschön gilt Herrn Dr. N. Sandner, der mir bei der Durchführung der Versuche immer hilfreich zur Seite stand.

Meinem Freund Dipl. Informatiker R. Winderl und Herrn Dr. Wiseman vom Leibniz – Rechenzentrum – München danke ich für die Erstellung der Programme und für die Hilfe bei der computergestützten Auswertung mit dem SSPS^X – Softwarepaket.

Für die praktische Einführung in die Blutentnahmetechnik beim Schwein sei auch Herrn Dr. K. Heinritzi gedankt.

Ferner schulde ich den Mitarbeiterinnen des Labors Frau S. Wiesmayr, Frau G. Loibl und Frau B. Amann für ihre Hilfsbereitschaft und gute Zusammenarbeit Dank.

L E B E N S L A U F

Markus Mahal	geb. am 22.11.1960 in Kümmersbruck
Eltern	Walter Mahal, Polizeibeamter Carolina Mahal, geb. Wilhelm
Familienstand	ledig
Schulbildung	1967 - 1971 Volksschule in Kümmersbruck 1971 - 1980 Max - Reger - Gymnasium in Amberg 25.06.1980 Allgemeine Hochschulreife
Wehrdienst	Juli 1980 - September 1981
Studium	1981 - 1986 an der Tiermedizinischen Fakultät der Ludwig - Maximilians - Universität München 25.11.1986 Abschluß der Tierärztlichen Prüfung
Approbation	15.01.1987
Berufstätigkeit	01.05.1987 - 30.09.1987 teilzeitbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungs - physiologie der Tiermedizinischen Fakultät der LMU München seit 01.10.1987 freier Mitarbeiter in einer Kleintierpraxis in Schwabach/Mfr.

